

炭素-13 磁気共鳴を用いた
非侵襲的脳代謝計測法の研究

渡邊 英宏

目次

第1章	序章	【1－13】
1.1	本研究の背景	1
1.1.1	磁気共鳴イメージングと磁気共鳴スペクトロスコピー	1
1.1.2	標識グルコースを用いた ^{13}C 磁気共鳴スペクトロスコピー	2
1.1.3	^{13}C 磁気共鳴スペクトロスコピーの課題	6
1.2	本研究の内容	10
	参考文献	12
第2章	最適 ^{13}C MRS パルスシーケンスの検討	【14－29】
2.1	序	14
2.2	^{13}C 観測法と ^1H 観測法	15
2.2.1	最適な ^{13}C 観測法	15
2.2.2	最適な ^1H 観測法	21
2.3	まとめ	26
	参考文献	28
第3章	局所励起分極移動法	【30－52】
3.1	序	30
3.2	局所励起分極移動シーケンス	32

3. 2. 1	局所励起 INEPT シーケンスの原理	3 2
3. 2. 2	R F 位相調整法	3 6
3. 2. 3	位相サイクリングの設計	3 8
3. 3	ファントム実験による実証	4 2
3. 3. 1	方法	4 2
3. 3. 2	結果	4 3
3. 4	局所励起 INEPT 法を用いたサル脳アミノ酸代謝計測	4 4
3. 4. 1	方法	4 4
3. 4. 2	結果	4 6
3. 5	まとめ	5 0
	参考文献	5 1
第 4 章	局所励起 HSQC 法	【 5 3 - 8 2 】
4. 1	序	5 3
4. 2	局所励起 HSQC 法	5 3
4. 2. 1	HSQC シーケンスの局所化への応用	5 3
4. 2. 2	局所励起 HSQC シーケンスの原理	5 7
4. 2. 3	コヒーレンス選択勾配磁場パルスを用いた水信号抑圧	5 9
4. 3	ファントム実験による実証	6 3

4. 3. 1 方法	6 3
4. 3. 2 結果	6 4
4. 4 局所励起 HSQC 法を用いたサル脳アミノ酸代謝計測	6 6
4. 4. 1 方法	6 6
4. 4. 2 結果	6 9
4. 5 考察	7 6
4. 5. 1 J カップリング	7 6
4. 5. 2 緩和	7 7
4. 5. 3 コヒーレンス選択勾配磁場パルスを用いた水信号抑圧	7 7
4. 5. 4 RFパルスの誤差	7 8
4. 5. 5 スライス選択パルスの選定	8 0
4. 6 まとめ	8 0
参考文献	8 1
第5章 マルチスライス HSQC 法	【8 3 - 1 0 7】
5. 1 序	8 3
5. 2 マルチスライス HSQC 法の原理	8 4
5. 3 ファントム実験による実証	8 9
5. 3. 1 方法	8 9

5.3.2 結果	9 0
5.4 マルチスライス HSQC 法を用いた ^{13}C 標識グルコース経口投与後の 人脳内アミノ酸代謝計測	9 1
5.4.1 方法	9 1
5.4.2 結果	9 4
5.5 考察	1 0 2
5.5.1 ボクセル間の信号差に関して	1 0 2
5.5.1.1 縦2スピン秩序における緩和	1 0 2
5.5.1.2 拡散	1 0 2
5.5.1.3 スライス特性	1 0 3
5.5.2 その他の信号差	1 0 3
5.5.2.1 磁場不均一性	1 0 3
5.5.2.2 動きの影響	1 0 3
5.5.2.3 ボクセル内の組織差	1 0 3
5.5.2.4 R F 分布	1 0 4
5.5.3 経口投与法	1 0 4
5.6 まとめ	1 0 5
参考文献	1 0 6

第 6 章	マルチスライス HSQC 法の高感度化	【 1 0 8 – 1 2 2 】
6 . 1	序	1 0 8
6 . 2	勾配磁場系の強化による高感度化	1 0 8
6 . 3	複素非線型最小二乗法を用いた 2D カーブフィッティング	1 1 1
6 . 4	人脳内アミノ酸代謝計測	1 1 5
6 . 4 . 1	方法	1 1 5
6 . 4 . 2	結果	1 1 6
6 . 5	まとめ	1 2 1
	参考文献	1 2 2
第 7 章	総括と結論	【 1 2 3 – 1 2 5 】
7 . 1	総括	1 2 3
7 . 2	結論	1 2 5
	謝辞	1 2 6

第1章 序章

1. 1 本研究の背景

1. 1. 1 磁気共鳴イメージングと磁気共鳴スペクトロスコピー

医学、特に臨床医学の分野において、X 線 CT、磁気共鳴診断装置をはじめとする断層撮影装置は重要な役割を担っている。特に、磁気共鳴診断装置は生体内の情報を非侵襲に取得することができるため、診断に欠くことのできない医用装置となっている^[1-1]。

この磁気共鳴診断装置における技術のうちで磁気共鳴イメージング (magnetic resonance imaging (MRI)) は、生体内に豊富に存在する水の分布、すなわち ^1H 分布を画像化することによって非侵襲に形態情報を可視化する方法である。この方法により、水の磁気共鳴に関する物理定数、すなわち縦緩和時間 (T_1)、横緩和時間 (T_2)、拡散時間 (D) 等でコントラスト比の良い画像を取得することができ、形態診断に重要な情報をもたらす^[1-1]。一方、近年では、脳機能 MRI (functional MRI (fMRI)) といった脳血液の酸素状態によってコントラストを付与する手法が考案され、脳の活性度を間接的に調べることも可能となってきた^[1-2]。

この磁気共鳴診断装置のもう一つの重要な技術である磁気共鳴スペクトロスコピー (magnetic resonance spectroscopy (MRS)) は、主に生体内での化学反応、すなわち代謝によって合成される代謝物の情報を取得する技術であり、これにより代謝診断が可能となると期待されている。この代謝診断の意義は、疾患ではまず代謝異常が生じ、その後に形態異常に進行すると考えられることから早期診断に役立つと期待されていることである。あるいは MRI によって得られる形態情報ではわからない質的診断が可能となるということも期待されている。例えば、対象核種が ^1H である ^1H MRS において脳内では、信号取得の容易さから N アセチルアスパラギン酸 (N acetyl aspartate (NAA))、クレアチン (creatine (Cr)) あるいはコリン (choline (Cho)) といった脳内代謝物が臨床研究の対象となっている。このうちで例えば NAA は神経細胞に局在することが示唆されており、神経細胞のマーカーになると期待されている。一方、対象核種が ^{31}P である ^{31}P MRS では、エネルギー代謝を反映するアデノシン 3 磷酸 (adenosine triphosphate (ATP)) を検出できるため、エネルギー代謝の観測に役立つ^[1-3]。

1. 1. 2 標識グルコースを用いた ^{13}C 磁気共鳴スペクトロスコピー [1-4]

^1H 、 ^{31}P は共に天然存在比がほぼ 100%であるため、 ^1H MRS や ^{31}P MRS は天然存在の代謝物の情報、例えば NAA、Cr、Cho あるいは ATP といった代謝物の存在量、すなわちプールサイズの情報を取得するのに適した方法である。これに対して、対象核種が ^{13}C である ^{13}C MRS では、標識試薬を用いることで代謝過程そのもの、すなわち代謝の動的観測ができる。この理由は、 ^{13}C は天然存在比が 1.1%であるため、標識率がほぼ 100%である ^{13}C 標識試薬を生体に投与することで、生体内でのこの試薬から代謝物への ^{13}C の取り込みを経時的に観測することができるためである。このうちで、脳において特に注目されているのが、ブドウ糖からアミノ酸への代謝であり、この代謝を調べることで脳内の活性度を知ることができるのではないかと期待されている。

この代謝の基質であるブドウ糖、すなわちグルコース (glucose (Glc)) は脳の主要なエネルギー源であり、これが脳内に取り込まれると、解糖経路を経てピルビン酸が合成され、さらにトリカルボン酸回路 (tricarboxylic acid cycle (TCA cycle)) を経て、 α ケトグルタル酸 (α -ketoglutarate (α -KG)) グルタミン酸 (glutamate (Glu))、グルタミン (glutamine (Gln)) 等のアミノ酸が合成される。このうちグルタミン酸は、神経伝達物質の一つであり、脳内の情報伝達に深く関与している代謝物である [1-5]。

この脳内でのグルコースからアミノ酸への代謝過程を、炭素を ^{12}C から ^{13}C に置き換えたグルコースすなわち ^{13}C 標識グルコースを生体に投与することにより観測することが可能となる。例えば、図 1-1 に示すように、グルコースの 1 位の炭素を ^{13}C で標識した [$1\text{-}^{13}\text{C}$] D グルコースを投与した場合、解糖経路そして TCA 回路を経て、グルタミン酸の 4 位の炭素に ^{13}C が取り込まれる。そして、グルタミンの 4 位に ^{13}C が取り込まれる。グルタミン酸は α -KG を介して TCA 回路とやり取りをしており、4 位が標識されたグルタミン酸 (これをグルタミン酸 4 位と称する) は、再び α -KG に代謝される。そして、さらに TCA 回路を介して、再びグルタミン酸が合成される。この際、 ^{13}C はグルタミン酸 2 位および 3 位に組み込まれる。

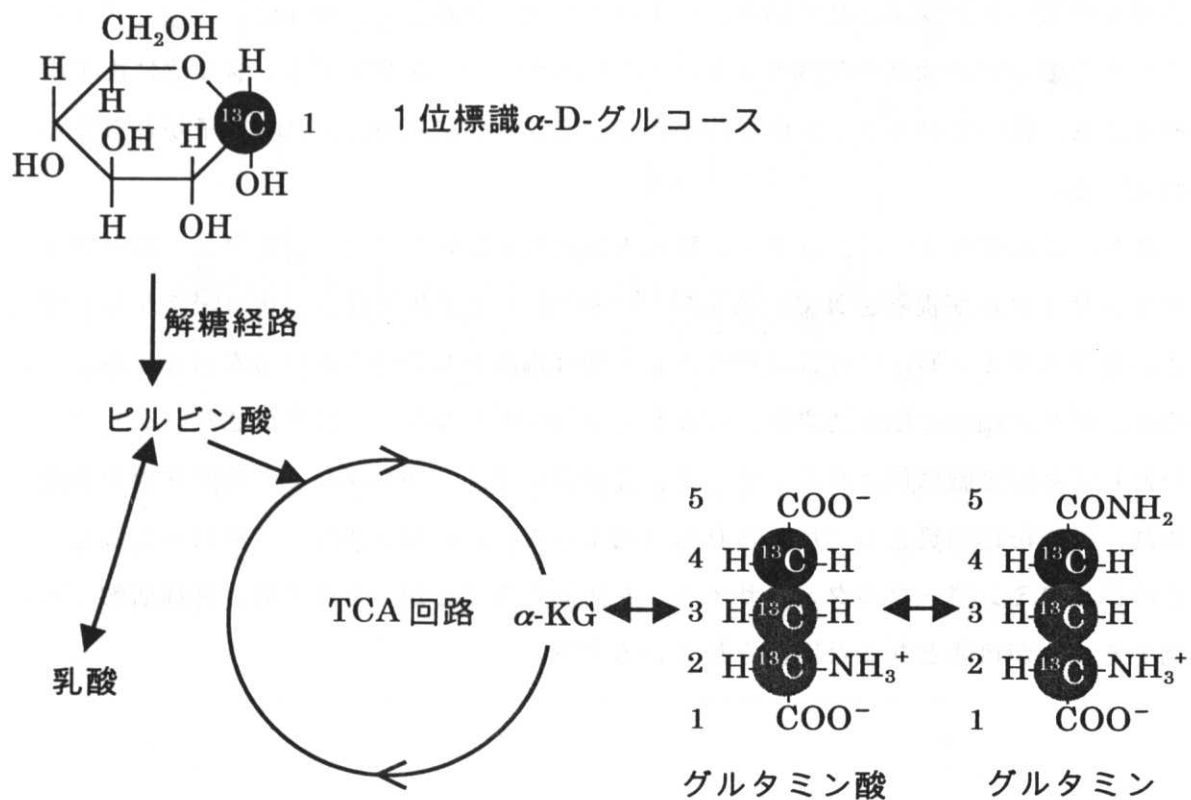


図 1 - 1 脳内グルコース代謝の模式図。標識グルコースは脳内に取り込まれると、解糖経路、TCA 回路を介してグルタミン酸やグルタミンに代謝される。1 位標識グルコースを投与すると、まずグルタミン酸 4 位、グルタミン 4 位に ^{13}C が組み込まれ、続いてグルタミン酸 2 位、3 位、グルタミン 2 位、3 位に組み込まれる。

図1-2には、サルに1位標識グルコースを静脈注射により投与し、その後に取り得たサル脳の *in vivo* ^1H デカップル ^{13}C スペクトルを示しているが、投与した1位標識グルコースのピークの他に、脳内で合成されたグルタミン酸4位、グルタミン4位等々のピークが観測されている。図1-3には、グルタミン酸4位、3位、グルタミン4位のピーク強度の時間変化を示しているが、 ^{13}C がグルタミン酸4位にまず組み込まれ、続いてグルタミン酸3位やグルタミン4位に組み込まれる様子がとらえられている。

また、このグルコースからアミノ酸への脳内代謝に関しては、グルタミン酸-グルタミンサイクルが提唱されている^{[1-6] - [1-8]}。このモデルでは、グルコースから合成されたグルタミン酸は神経伝達物質として神経細胞から放出され情報を伝達する。その後、グリア細胞に取り込まれ、グルタミン酸からグルタミンに合成され、グルタミンとして神経細胞に戻される。そして、このグルタミンからグルタミン酸が再び合成され、神経伝達物質として用いられる(図1-4)。標識グルコースを用いることで、このグルタミン酸-グルタミンサイクルを観測することができるため、神経活動を観測することが可能となると期待されている^[1-9]。

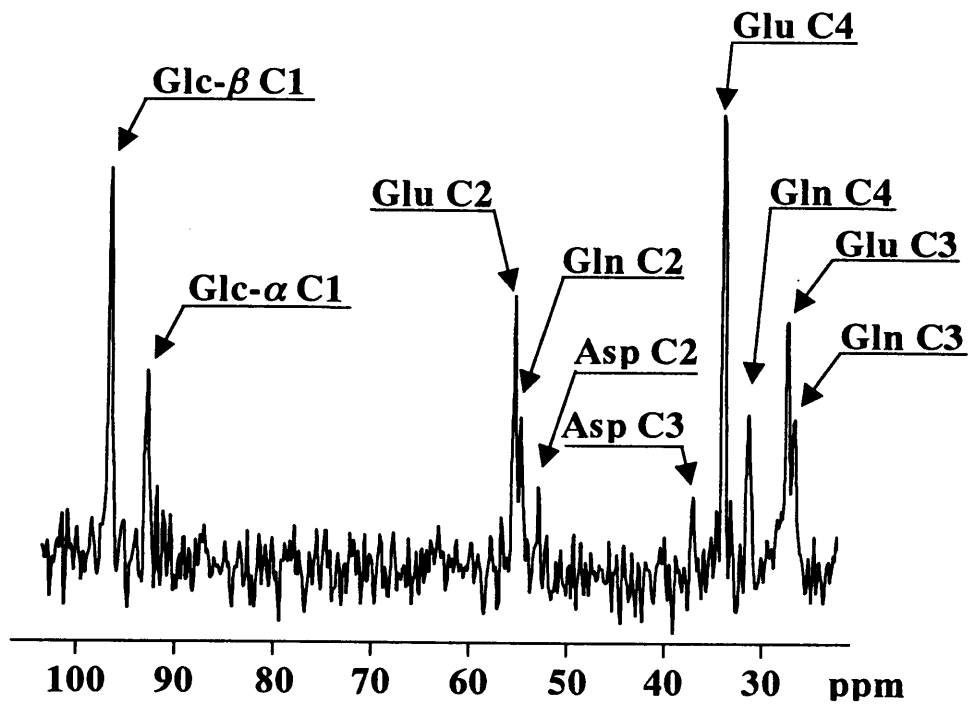


図1-2 [1- ^{13}C]D グルコース静脈注射投与後の *in vivo* サル脳 ^{13}C スペクトル。投与したグルコース1位のピークと脳内で合成されたグルタミン酸 (Glu)、グルタミン (Gln)、アスパラギン酸 (Asp) の各種アミノ酸のピークが検出されている。

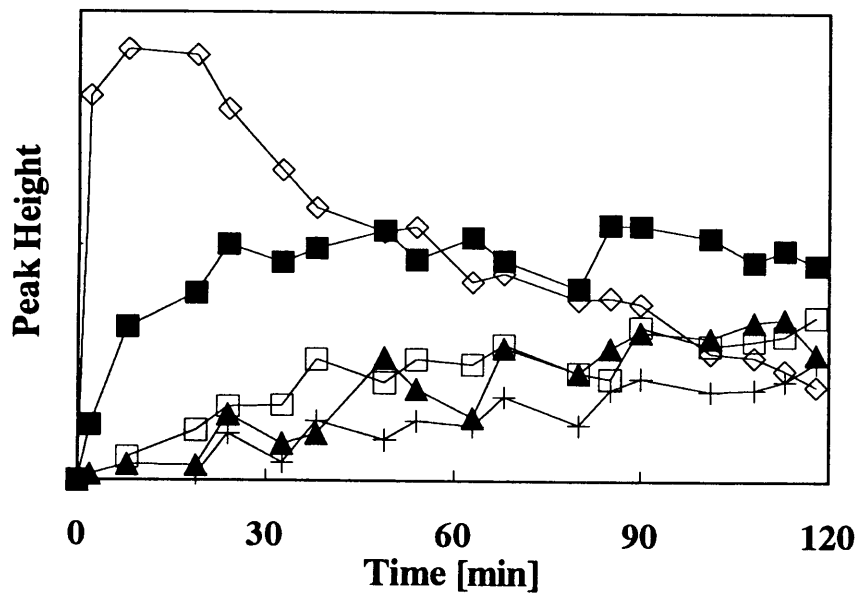


図1-3 [1- ^{13}C]D グルコース静脈注射投与後のサル脳 ^{13}C スペクトルにおける各ピークの信号強度の時間変化。投与したグルコース β 1位 (◇) は時間と共に減少し、これに伴い脳内で合成されるグルタミン酸4位 (■) が増加している。この後、グルタミン酸2位 (□) および3位 (▲) とグルタミン4位 (+) が増加している。

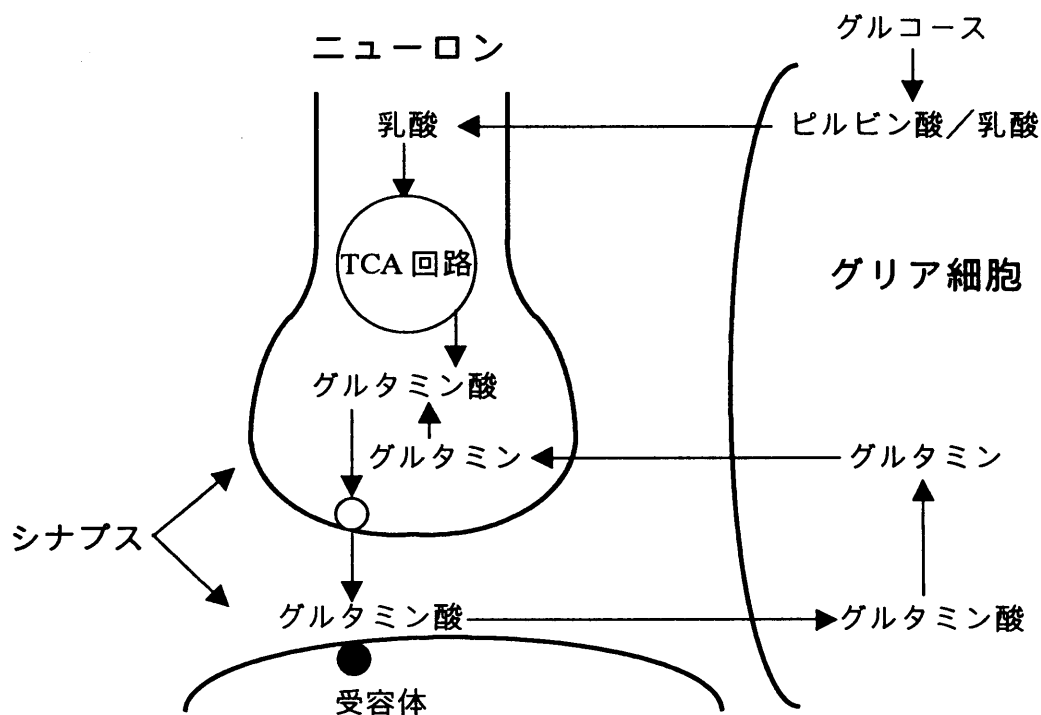


図1-4 脳アミノ酸代謝のグルタミン酸-グルタミンモデル。グルコースから解糖経路、TCA 回路を介して代謝されたグルタミン酸はシナプス小胞に蓄えられ、ニューロン（神経細胞）から放出される。放出されたグルタミン酸は、受容体にとらえられ、その後グリア細胞に取りこまれてグルタミンに代謝される。代謝されたグルタミンはシナプスに取りこまれ、グルタミン酸に合成され、再び神経代謝物質として利用される。

1. 1. 3 ^{13}C 磁気共鳴スペクトロスコピーの課題

前節で説明した様に、標識グルコースを用いた ^{13}C MRS は脳内のアミノ酸代謝過程そのものを観測することができるため、脳代謝の臨床研究そして脳代謝診断の有用なツールとなると期待されている。また、この脳代謝計測の臨床応用のためには、脳代謝計測専用機等の特別な装置ではなく、普及機である全身用 MRI 装置上でこれらの脳代謝計測が実現できることが望ましい。しかし、全身用 MRI 装置上で ^{13}C MRS を実現するには幾つかの課題がある。このうちの最大の課題が、感度の低さの克服であり、このために様々なパルスシーケンスが開発されてきた。このうちで、 ^1H デカップルシーケンスは最も簡便に感度を増大させることができるため、最も頻繁に in

vivo に応用されてきた^[1-10]。そして、脳内アミノ酸代謝観測のために最初に人に応用された方法であった^[1-11]。しかし、測定には 144 ml のボリューム体積が必要で、ほぼ後頭部全体からの信号取得に留まっており^[1-12]、この方法に代わる高感度パルスシーケンスが期待されていた。

高感度化の他の *in vivo* 応用に対する課題としては、非侵襲観測で重要な要素である領域の限定、すなわち局所化がある。この領域の限定のために、磁気共鳴診断装置では静磁場 B_0 中に勾配磁場コイル^[1-13]を設けている(図 1-5)。この勾配磁場コイルは、空間 3 軸 x 、 y 、 z のそれぞれに対して、静磁場 B_z と同一の方向で位置に対して線形な強度分布を有する磁場を作ることのできるコイルである。このコイルに印加する電流は勾配磁場電源より供給される。通常電流はパルスで供給され、印加時の勾配磁場強度を G_x とすると、位置 x での磁場強度は $G_x x$ と記述でき、従って共鳴周波数は $\gamma(B_0 + G_x x)$ となる。この様に勾配磁場パルスを用いて位置情報を周波数情報に変換することができる。従って、周波数帯域が制限された RF パルスと勾配磁場パルスを同時に被検体に印加することで、被検体内の限定された領域のスピンを励起することが可能となる(図 1-6)。例えば、RF パルスの周波数帯域を $\gamma G_x(x_b - x_a)$ 、搬送周波数を $\gamma(B_0 + G_x(x_a + x_b)/2)$ と設定することにより、 x_a から x_b の範囲に含まれるスピンを励起することが可能となる(図 1-7)。

しかし、化学シフトの差により観測対象の代謝物のピーク共鳴周波数が異なるため、局所化に伴う位置ずれの問題が生ずる。例えば、 ^1H の場合は化学シフト範囲が数 ppm であるため、現在臨床装置として認められている上限の静磁場強度 2T においてこの周波数差は数 100 Hz に留まる。一方、 ^{13}C の場合は化学シフト範囲が 100 ppm にもおよび、2T においてこの周波数差は 2 kHz である。従って、通常の臨床装置が有する 10 mT/m の勾配磁場強度の勾配磁場パルスを用いると、 ^1H の RF パルスによる局所化では代謝物間の位置ずれが約 1 mm に留まるのに対し、 ^{13}C では約 2 cm の位置ずれが生ずることとなる(図 1-7)。

さらに、この他にもデカップリングパルスによる生体内の発熱の問題、生体内の不均一性を起因とする問題等があり、臨床装置上で実現できる ^{13}C MRS パルスシーケンスが望まれていた。

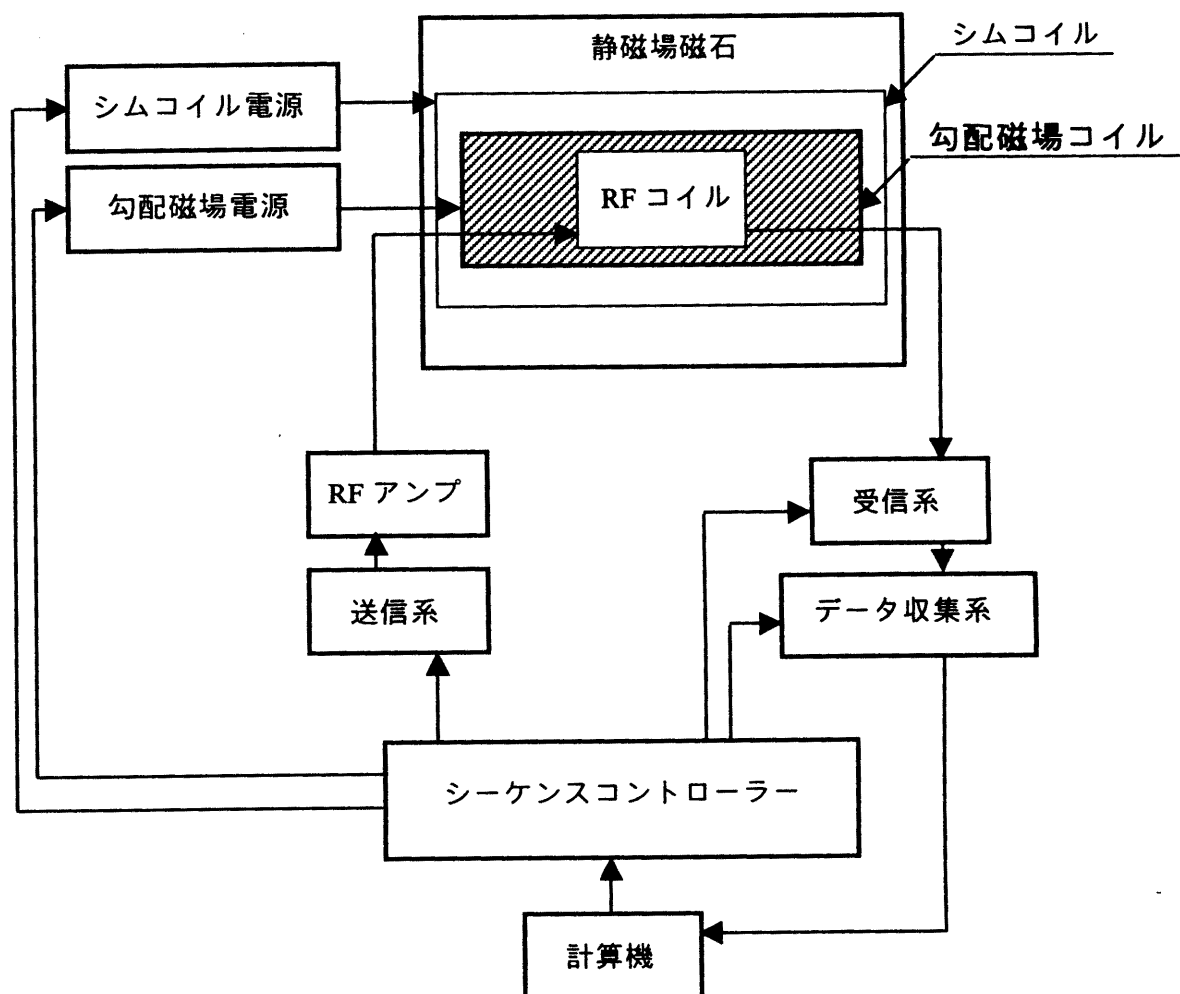


図1-5 磁気共鳴診断装置のブロック図。NMR スペクトロメーターとの最大の違いは、勾配磁場電源および勾配磁場コイルで構成される勾配磁場系である。計算機からの命令が、シーケンスコントローラを介して RF 系（送信系、受信系）、勾配磁場電源、データ収集系に伝達される。この機能によって、RF パルス、勾配磁場パルスで構成されるパルスシーケンスが印加される。この結果生成される NMR 信号がデータ収集系にてデジタル信号に変換され、計算機に取りこまれる。計算機内では再構成処理が行われ、画像やスペクトルが生成される。

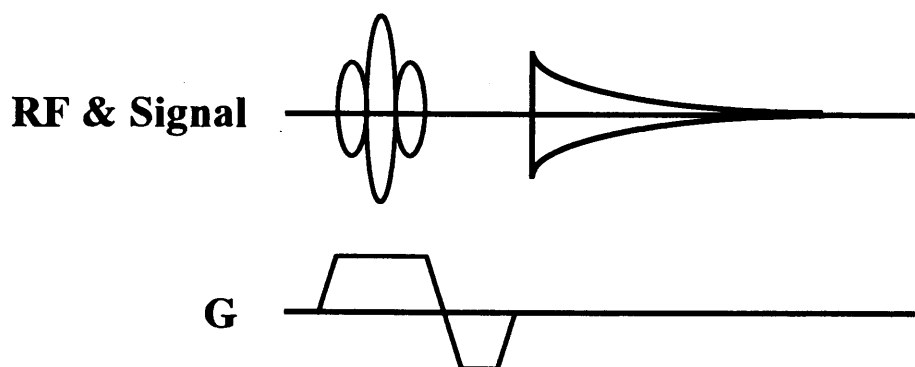


図 1-6 RF パルスとスライス勾配磁場パルス (G) を印加して、所望の領域のスピンのみを励起することができる。

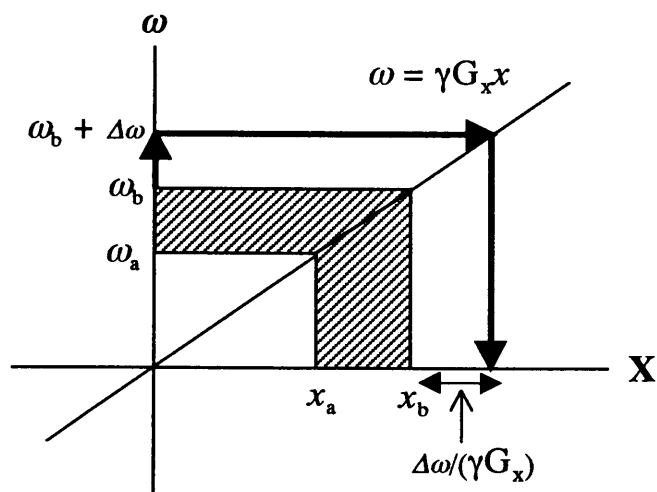


図 1-7 周波数帯域が $\omega_a \sim \omega_b$ の RF パルスをスライス勾配磁場パルスと同時に印加することで $x_a \sim x_b$ の領域のスピンのみが励起される。しかし、化学シフトのために $-\Delta\omega$ の共鳴周波数のずれを有する代謝物ピークに対しては、 $\Delta\omega/(\gamma G_x)$ の位置ずれが生ずる。 γ が小さく、代謝物間の化学シフト範囲が広い ^{13}C の場合には、この位置ずれが問題となる。

1. 2 本研究の内容

以上の背景の中で、本研究は ^{13}C MRS を用いた非侵襲的脳代謝計測を全身用 MRI 装置で実現する上で最適なパルスシーケンスを提案し、動物実験および人ボランティア試験によりその性能を実証することを目的として行われた。

第2章では、化学分析用の NMR スペクトロメーター上でこれまでに開発されてきた ^{13}C NMR パルスシーケンスの特長を検討し、非侵襲的脳代謝計測にとって最適なパルスシーケンスについて論ずる。具体的には、 ^{13}C を直接観測する ^{13}C 観測法あるいは直接観測法と、 ^{13}C に結合した ^1H を観測する ^1H 観測法あるいは間接観測法の2点から論じる。その結果、 ^{13}C 観測法では分極移動シーケンスが、 ^1H 観測法では heteronuclear single quantum coherence (HSQC) シーケンス^[1-14] がそれぞれ最適であり、*in vivo* 計測には HSQC シーケンスが最適であることを述べる。

第3章では、第2章にて ^{13}C 観測法において最適なパルスシーケンスであると論じた分極移動シーケンスを全身用 MRI 装置に応用する際の問題点を述べ、これを解決する局所励起 insensitive nucleus enhancement by polarization transfer (INEPT^[1-15]) シーケンス^[1-16] を提案する。さらに、局所励起 INEPT シーケンスを実現する上で重要な RF 位相調整法および位相サイクリングの設計法に関して言及する。そして、ファントム実験により本方法の性能を評価し、動物実験により *in vivo* にて実現可能であることを実証する。

第4章では、第2章にて ^1H 観測法において最適なパルスシーケンスであると論じた HSQC シーケンスを全身用 MRI 装置に応用する際の問題点を述べ、これを解決する局所励起 HSQC シーケンス^[1-17] を提案する。そして、ファントム実験により本方法の性能を実証し、動物実験により *in vivo* にて実現可能であることを実証する。そして、さらに高感度化するための項目に関して考察する。

第5章では、第4章で提案した局所励起 HSQC シーケンスと同一のスキャン時間で複数の部位からの 2D ^1H - ^{13}C HSQC スペクトル取得を可能としたマルチスライス HSQC シーケンス^[1-18] を提案する。本方法により複数の部位のアミノ酸代謝を計測することが可能となる。ファントム実験により本方法の性能を実証し、人ボランティア試験により人脳の複数の部位からの信号取得が可能であることを実証する。さらに、本試験では、臨床応用が容易な標識グルコースの経口投与後の脳内アミノ酸代謝計測を実証している。

第6章では、勾配磁場系の強化により高感度化を実現し、時間分解能 20 分で人脳内 8 ml の部位からのグルタミン酸 4 位の信号を $S/N=1\sim 2$ で取得している。また人脳内 36 ml の部位からの 2D スペクトルを取得し、100 分の積算スペクトル上でグルタミン酸、グルタミンの分離が可能であることを実証する。さらに、マルチスライス HSQC シーケンスで取得できる 2D スペクトル定量化のためのスペクトル処理法を提案し、人脳 2D スペクトルを良好にカーブフィットできることを実証している。

第7章では本論文の内容および結論を簡潔にまとめる。

参考文献

- [1-1] C. L. Partain, R. R. Price, J. A. Patton, M. V. Kulkarni, A. E. James Jr., editors, "Magnetic Resonance Imaging, Second Edition, Volume I", Philadelphia, Saunders, 1988.
- [1-2] S. Ogawa, D.W. Tank, R. Menon, J. M. Ellermann, S.-G. Kim., H. Merkle, K. Ugurbil, "Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: functional brain mapping with magnetic resonance imaging", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 89, pp. 5951-5955, 1992.
- [1-3] B. Chance, J. S. Leigh Jr., A. C. McLaughlin, M. Schnall and T. Sinnwell, "Phosphorous-31 spectroscopy and imaging", In: C. L. Partain, R. R. Price, J. A. Patton, M. V. Kulkarni, A. E. James Jr., editors, "Magnetic Resonance Imaging, Second Edition, Volume II", Philadelphia, Saunders, 1988.
- [1-4] N. Beckmann, editor, "Carbon-13 NMR spectroscopy of biological systems", San Diego, Academic Press, 1995.
- [1-5] G. M. Shepherd, "The synaptic organization of the brain", Oxford, Oxford Univ. Press, 1990.
- [1-6] C. J. Van den Berg and D. Garfinkel, Biochem. J." A stimulation study of brain compartments. Metabolism of glutamate and related substances in mouse brain", vol. 123, pp.211-218, 1971.
- [1-7] L. Hertz, Prog. Neurobiol., "Functional interactions between neurons and astrocytes I. Turnover and metabolism of putative amino acid transmitters", vol. 13, pp.277-323, 1979.
- [1-8] L. Peng, L. Hertz, R. Huang, U. Sonnewald, S. Peterson, B. Westergaard, N. Larsson and A. Schousboe, "Utilization of glutamine and of TCA cycle constituents as precursors for transmitter glutamate and GABA", Dev. Neurosci., vol. 15, pp.367-377, 1993.
- [1-9] J. Shen, K. F. Petersen, Kelvin L. Behar, P. Brown, T. W. Nixon, G. F. Mason, O. A. C. Petroff, G. L. Shulman, R. G. Shulman and D. L. Rothman, "Determination of the rate of the glutamate/glutamine cycle in the human brain by *in vivo* ^{13}C NMR", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 96, pp. 8235-8240, 1999.
- [1-10] K. L. Behar, O. A. C. Petroff, J. W. Prichard, J. A. Alger, R. G. Shulman, Detection of metabolites in rabbit brain by ^{13}C NMR spectroscopy following administration of $[1-^{13}\text{C}]$ glucose, Magn. Reson. Med., vol. 3, pp. 911-920, 1986.

- [1-11] N. Beckmann, I. Turkalj, J. Seeling, U. Keller, “ ^{13}C NMR for the assessment of human brain glucose metabolism *in vivo*”, *Biochemistry*, vol. 30, pp. 6362-6366, 1991.
- [1-12] R. Gruetter, E. J. Novotny, S. D. Boulware, G. F. Mason, D. L. Rothman, G. I. Schulman, J. W. Prichard, R. G. Shulman, Localized ^{13}C NMR spectroscopy in the human brain of amino acid labeling from D-[1- ^{13}C] glucose, *J. Neurochem.*, vol. 63, pp. 1377-1385, 1994.
- [1-13] S. R. Thomas, L. J. Busse, J. F. Schenck, “Gradient coil technology”, In: C. L. Partain, R. R. Price, J. A. Patton, M. V. Kulkarni, A. E. James Jr., editors, “Magnetic Resonance Imaging, Second Edition, Volume II”, pp. 1162-1182, Philadelphia, Saunders, 1988.
- [1-14] G. Bodenhausen and D. J. Ruben, “Natural abundance nitrogen-15 NMR by enhanced heteronuclear spectroscopy”, *Chem. Phys. Lett.*, vol. 69, pp. 185-189, 1980.
- [1-15] G. A. Morris and R. Freeman, “Enhancement of nuclear magnetic resonance signals by polarization transfer”, *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 101, pp. 760-762, 1979.
- [1-16] H. Watanabe, Y. Ishihara, K. Okamoto, K. Oshio, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, “*In vivo* 3D localized ^{13}C spectroscopy using modified INEPT and DEPT”, *J. Magn. Reson.*, vol. 134, pp. 214-222, 1998.
- [1-17] H. Watanabe, Y. Ishihara, K. Okamoto, K. Oshio, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, “3D localized ^1H - ^{13}C heteronuclear single-quantum coherence correlation spectroscopy *in vivo*”, *Magn. Reson. Med.*, vol. 43, pp. 200-210, 2000.
- [1-18] H. Watanabe, Y. Ishihara, K. Okamoto, K. Oshio, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, “Human brain glucose metabolism mapping using multislice 2D ^1H - ^{13}C correlation HSQC spectroscopy”, *Magn. Reson. Med.*, vol. 43, pp. 525-533, 2000.

第2章 最適 ^{13}C MRS パルスシーケンスの検討^{[2-1], [2-2]}

2.1 序

この章では、溶液系の NMR スペクトロメーター上でこれまでに開発されてきた ^{13}C NMR パルスシーケンスについて洞察する。この ^{13}C NMR パルスシーケンスは、 ^{13}C 観測法と ^1H 観測法の2つに分類できる。 ^{13}C 観測法は ^{13}C を直接観測する方法である。これに対して、 ^1H 観測法は ^{13}C に結合した ^1H を、 ^{13}C と ^1H の異核種スピン-スピン結合すなわち J_{CH} を利用して観測する方法である。前者の ^{13}C 観測法には、核オーバーハウザー効果 (nuclear Overhauser effect (NOE))^[2-3] を利用した ^1H デカップルシーケンス、 ^1H から ^{13}C への分極移動を利用する INEPT シーケンスおよび distortionless enhancement by polarization transfer (DEPT) シーケンス^[2-4] がある。これに対して、 ^1H 観測法には、proton-observe-carbon-edited spectroscopy (POCE)^{[2-5] - [2-7]}、heteronuclear multiple quantum coherence (HMQC)^{[2-8] - [2-11]} および HSQC がある。

両者の方法のうち、最大の課題である感度の点で磁気回転比 γ が大きな ^1H 観測法が最良である。何故ならば、磁気共鳴において、信号強度は磁気回転比 γ の3乗に比例し^[2-12]、生体でのノイズ強度は共鳴周波数に比例する^[2-13]。一方、 ^{13}C の磁気回転比 $\gamma_{^{13}\text{C}}$ は ^1H の磁気回転比 $\gamma_{^1\text{H}}$ の約 1/4 である。従って、静磁場強度が一定の条件の下では、生体における ^1H の信号対ノイズ比、すなわち S/N は、 ^{13}C の S/N に対して 16 倍となる。しかし、この反面、 ^1H 観測法では狭い化学シフト範囲のため代謝物ピークを分離しにくく、特に標識グルコースを用いた ^{13}C MRS の対象であるグルタミン酸やグルタミンを分離することは *in vivo* では困難である^{[2-14], [2-15]}。つまり、 ^{13}C 観測法はピーク分離が優れるものの低感度および局所化に問題があり、 ^1H 観測法は逆に高感度で局所化性能も良いが、ピーク分離に欠点を有する。そこで、本章では ^{13}C 観測法に対して感度、局所化の観点から、 ^1H 観測法に対して主にピーク分離の点で各々のパルスシーケンスを比較する。

以下、これらの方法について簡単に説明し、それぞれのパルスシーケンスの特徴および欠点を述べる。これらを総合した上で、 ^{13}C MRS を用いた非侵襲的脳代謝計測の実現の上で最適なパルスシーケンスを選択する。

2. 2 ^{13}C 観測法と ^1H 観測法

2. 2. 1 最適な ^{13}C 観測法

^{13}C 観測法の代表的なパルスシーケンスとしては、序章で述べた様に NOE を利用した ^1H デカップルシーケンス、分極移動シーケンスがある。このうちの NOE を利用した ^1H デカップルシーケンス (図 2-1) は、 ^1H デカップリングパルスにより ^1H スピンに高周波磁場を照射し飽和させる方法である。この結果、 ^{13}C スピンと ^1H スピンとが双極子-双極子相互作用のみで緩和する場合には $1 + \frac{1}{2} \frac{\gamma_{\text{H}}}{\gamma_{\text{C}}}$ の感度向上が期

待でき、すなわち ^{13}C と ^1H 間では 3 倍となる。この方法は、 ^{13}C NMR パルスシーケンスのうちで最も簡便に感度を増大できる方法であるため、*in vivo* 応用の初期から使用されており、そして人に最初に適用された方法であった^[2-16]。しかし、序章の第 1. 1. 3 節にて述べた様に局所化での代謝物間の位置ずれの問題があった。さらに、NOE を起こすためにデカップリングパルスを印加する必要がある、これを起因とする生体内の発熱の問題があった。

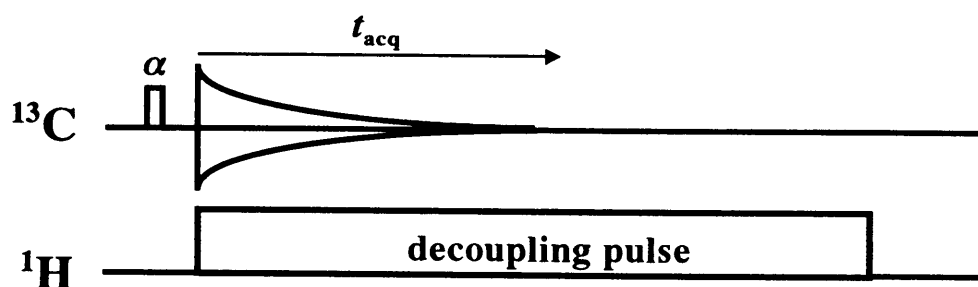


図 2-1 ^1H デカップル ^{13}C MRS シーケンス。デカップリングパルスの印加により ^1H スピンを照射し、NOE を生じさせ、 t_{acq} にて NMR 信号を収集する。 ^{13}C NMR パルスシーケンスのうちで最も簡便に信号を増大させることが可能な方法である。

もう一方の ^{13}C 観測法は分極移動と呼ばれる方法であり、 J_{CH} カップリングを介して ^1H スピンの分極を利用し、 ^{13}C スピンの分極を増大させる方法である。スピン量子数が共に $1/2$ である ^1H スピン I と ^{13}C スピン S の IS 系では、図 2-2 (a) に示すように 4 つのエネルギー状態が存在し、エネルギーの低い状態から $\alpha(I)\alpha(S)$ 、

$\alpha(I)\beta(S)$ 、 $\beta(I)\alpha(S)$ および $\beta(I)\beta(S)$ で表すことができる。これらのエネルギー準位上のスピン占有数は、 γ_{13C} と γ_{1H} の比から図2-2 (a)の太線の様になる。従って、例えば $\alpha(I)\alpha(S)$ の 1H のみを照射して $\beta(I)\alpha(S)$ に励起すると縦2スピン秩序 (longitudinal two-spin order) [2-17], [2-18] と呼ばれる高エネルギーと低エネルギーの間での占有数の入れ替えが生ずる。この結果 ^{13}C 遷移の占有数の差が、 $\gamma_{1H}/\gamma_{13C} = 4$ 倍となり、この状態で $90^\circ (^{13}C)$ パルスを押加すると、感度が4倍の ^{13}C 信号が取得できる。これを 1H から ^{13}C への分極移動と呼ぶが、この分極移動を広帯域で適用、すなわち広い化学シフト範囲の物質に適用できるように提案されたパルスシーケンスがINEPT (図2-3 (a))、あるいはDEPT (図2-3 (b))である。

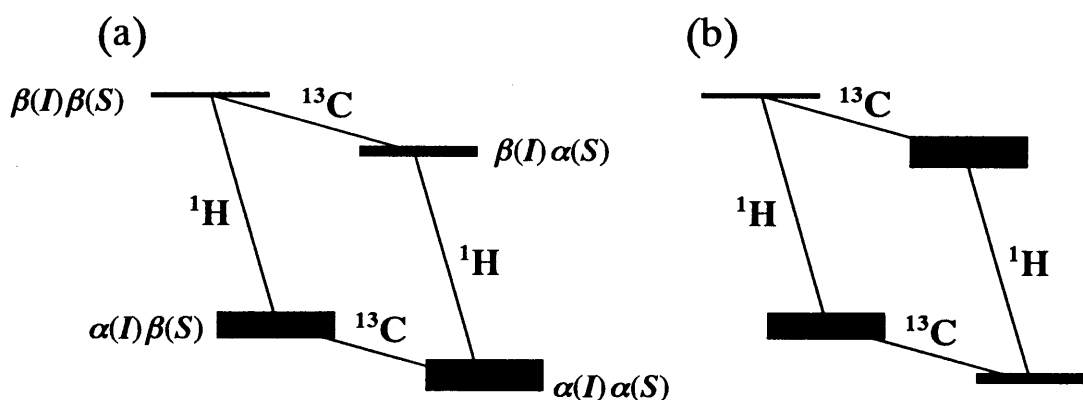


図2-2 1H 、 ^{13}C のIS系に対するエネルギー準位図。それぞれの準位でのスピン占有数を太線で示す。 γ の差より 1H 遷移の占有数の差は ^{13}C 遷移のそれよりも大きい(a)。選択的反転パルスにより一方の 1H 遷移の占有数を反転させると、 ^{13}C 遷移の占有数の差が増大する(b)。

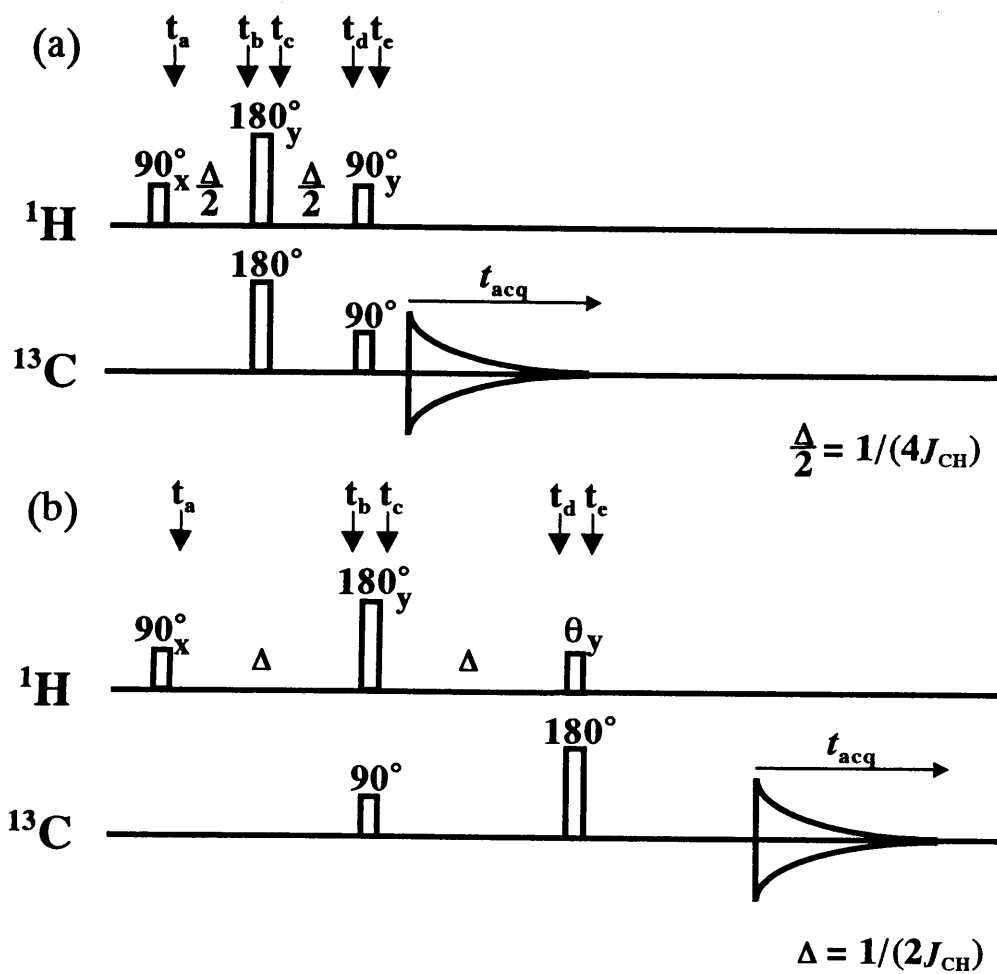


図 2 - 3 分極移動パルスシーケンスである INEPT (a) と DEPT (b) 。これらのパルスシーケンスによって、 ${}^1\text{H}$ から ${}^{13}\text{C}$ への分極移動により増大した ${}^{13}\text{C}$ 信号を取得することができる。

このうち INEPT シーケンスは ^1H の 3 つの RF パルスと ^{13}C の 2 つの RF パルスとで構成される。まず 90° (^1H) パルスで ^1H スピンが励起された後、 ^1H 化学シフトと J_{CH} により磁化が展開する。この磁化は、 ^{13}C に結合した ^1H 、すなわち $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 二重線磁化ベクトルである。このうち化学シフトによる展開は 180° (^1H) で再結像され、磁化ベクトルは J_{CH} によってのみ展開する。IS 系の場合、 $1/(4J_{\text{CH}})$ 後に $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 二重線磁化ベクトルの位相差が 90° となる (図 2-4 (b))。この時点で印加する 180° (^1H , ^{13}C) パルスとにより、 J_{CH} によってのみ展開し、さら $1/(4J_{\text{CH}})$ 後に $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 二重線磁化ベクトルの位相差が 180° となる (図 2-4 (d))。この時点で 90° (^1H) パルスを印加することで、図 2-2 で説明した高エネルギーと低エネルギーとの間でスピンの存在数が反転した分布、すなわち縦 2 スピン秩序が得られる。従って、同時に印加する 90° (^{13}C) パルスにより、 ^1H から ^{13}C の分極移動信号が取得できる。

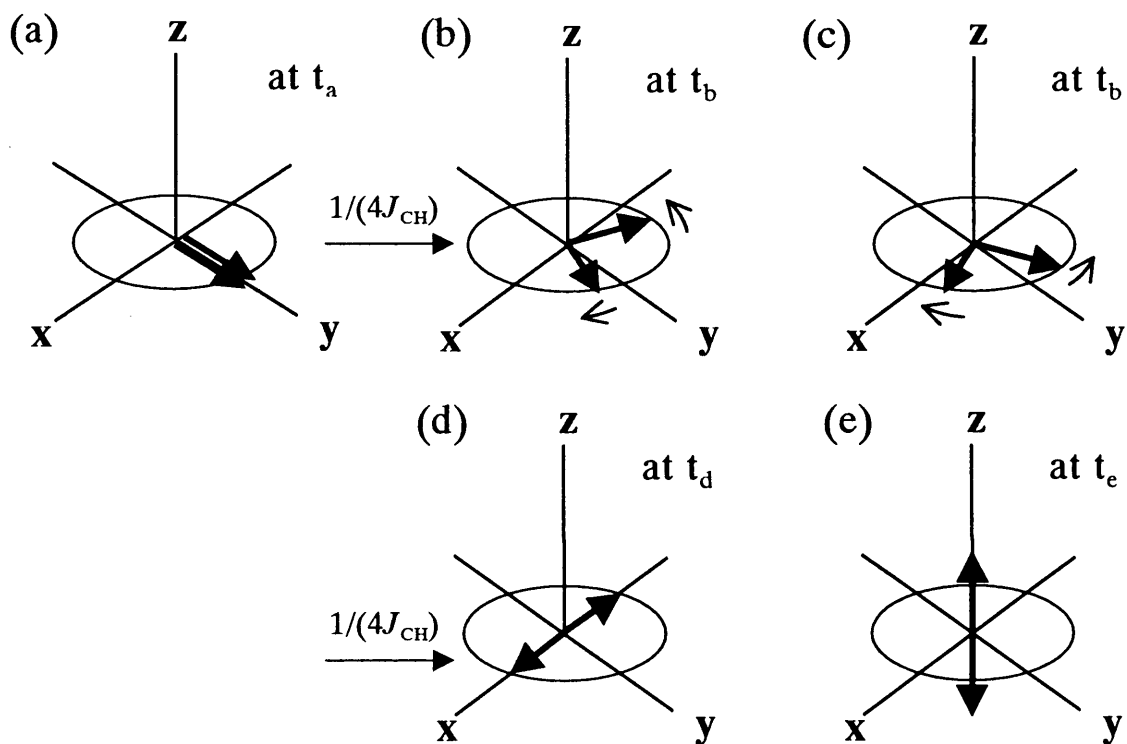


図 2-4 INEPT 印加時の $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 磁化ベクトルの動き。時刻 $1/(4J_{\text{CH}})$ 後に、 $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 二重線磁化ベクトルの位相差が 90° となる (b)。この時刻で 180° (^1H , ^{13}C) パルスを印加する (c)。そして、さらに $1/(4J_{\text{CH}})$ 後に反位相 $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 二重線磁化ベクトルが生成され (d)、 90° (^1H) パルスにより、縦 2 スピン秩序、すなわち図 2-2 (b) の状態が生成される。この後の 90° (^{13}C) パルスにより、分極移動信号が観測できる。

この ^1H から ^{13}C への分極移動は、密度行列の基底演算子の一種である直積演算子 [2-17], [2-18] であらわに表現することができる。これは、 ^1H 、 ^{13}C 間の IS 系の場合、 J カップリングは弱い結合すなわち相互作用のうちで I 、 S のゼーマン項に対して J カップリングの項の寄与が小さいために、スピン集合体の時間発展記述を完全に記述できるからである。INEPT 分極移動の場合、直積演算子展開は以下の様になる。但し、 ^1H 化学シフトによる展開を無視している。

$$\begin{aligned}
 I_x &\xrightarrow{90^\circ_x(^1\text{H})} -I_y && \text{at } t_a \\
 &\xrightarrow{\frac{1}{4J_{\text{CH}}}} -\frac{1}{\sqrt{2}}I_y + \frac{1}{\sqrt{2}}2I_xS_z && \text{at } t_b \\
 &\xrightarrow{180^\circ_y(^1\text{H}), 180^\circ_x(^{13}\text{C})} -\frac{1}{\sqrt{2}}I_y + \frac{1}{\sqrt{2}}2I_xS_z && \text{at } t_c \quad [2-1] \\
 &\xrightarrow{\frac{1}{4J_{\text{CH}}}} 2I_xS_z && \text{at } t_d \\
 &\xrightarrow{90^\circ_y(^1\text{H}), 90^\circ_x(^{13}\text{C})} 2I_xS_y && \text{at } t_e
 \end{aligned}$$

従って、INEPT パルス列により、 $2I_xS_y$ が生成され ^1H から ^{13}C に分極移動した ^{13}C の 1 量子コヒーレンス、すなわち ^{13}C 信号が観測できる。

INEPT に対して DEPT パルスシーケンスは、 ^1H スピンと ^{13}C スピンの多量子コヒーレンスを生成して分極移動を生起する方法である (図 2-3 (b))。この方法では、 $90^\circ(^1\text{H})$ パルスより $1/(2J_{\text{CH}})$ 後に反位相 $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 二重線磁化ベクトルが生成した時点で $90^\circ(^{13}\text{C})$ パルスを印加する。これにより ^{13}C がデカップルされて多量子コヒーレンスが生成され、これ以降磁化ベクトルは J_{CH} による展開をしない。続く $1/(2J_{\text{CH}})$ 後に ^1H パルスを印加して ^1H から ^{13}C への分極移動を生起する。DEPT の場合、 ^{13}C に結合する ^1H の数で生成する演算子が以下の様に異なるため CH_n の編集に用いられる。

$$\begin{array}{ll}
I_z \xrightarrow{90_x(^1\text{H})} -I_y & \text{at } t_a \\
\xrightarrow{\frac{1}{2J_{\text{CH}}}} 2I_x S_z & \text{at } t_b \\
\xrightarrow{180_y(^1\text{H}), 90_x(^{13}\text{C})} 2I_x S_y & \text{at } t_c \quad [2-2] \\
\xrightarrow{\frac{1}{2J_{\text{CH}}}} & \\
\begin{array}{ll}
2I_x S_y & \text{CH} \\
-4I_k I_l S_x & \text{CH}_2 \\
-8I_k I_l I_m S_y & \text{CH}_3
\end{array} & \text{at } t_d
\end{array}$$

従って、オブザーバブルは以下の様になる。

$$\begin{array}{ll}
\theta_y(^1\text{H}), 180_x(^{13}\text{C}) \rightarrow & \\
\begin{array}{ll}
-2I_x S_y & \text{CH} \\
-4I_k I_l S_x \sin \theta \cos \theta & \text{CH}_2 \\
8I_k I_l I_m S_y \sin \theta \cos^2 \theta & \text{CH}_3
\end{array} & \text{at } t_e \quad [2-3]
\end{array}$$

以上の分極移動パルスシーケンスでは、前述の通り感度向上効果が4倍でありNOEによる3倍よりも若干高い。さらにTR間の信号回復がNOEでは ^{13}C の T_1 で決定されるのに対して、分極移動では ^1H の T_1 で決定される。 ^1H の T_1 は ^{13}C の T_1 よりも短いため、分極移動の方が高いS/Nが期待できる。局所化に対しても、INEPTやDEPTでは ^1H で局所化した後に分極移動を生起することが可能であるため、代謝物間の位置ずれの影響を小さくすることが可能となる。具体的には、序章で示した通り、臨床装置と同等の仕様では ^{13}C で局所化した場合の約2 cmの位置ずれに対して、分極移動の場合は約1 mmとすることが可能である。さらに、INEPT、DEPTでのデカップリングパルスの役割は J_{CH} により分裂したピークの一重線化であるから、データ収集期にのみ印加すれば良い。この結果、NOEを生起するために本質的にデカップリングパルス印加が必要な ^1H デカップルシーケンスと比較して生体のRF加熱の影響

響も緩和することができる^[2-1]。以上より、 ^{13}C 観測法においては分極移動パルスシーケンス、すなわち INEPT あるいは DEPT シーケンスが最良である。

2. 2. 2 最適な ^1H 観測法

^{13}C MRS パルスシーケンスのうちで原理的に最も高感度である ^1H 観測法としては、POCE 法および異核種シフト相関法である HMQC および HSQC が挙げられる。このうち POCE 法は ^{13}C 反転パルスの印加と非印加の差分スペクトルにより ^{13}C に結合した ^1H 信号、すなわち $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ を取得する方法である (図 2-5)。このシーケンスでは 90° パルスと 180° パルスの時間間隔 τ を $1/(2J_{\text{CH}})$ に設定し、 180° (^1H) パルスと同時に 180° (^{13}C) パルスを印加する。この結果、 ^1H 化学シフトによる展開は再結像するものの J_{CH} によってさらに展開し、 2τ の時刻には 180° (^{13}C) パルス非印加の場合に得られる $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 信号に対して位相が反転した信号が得られる (図 2-6 (c))。これに対して、 ^{13}C に結合していない ^1H の位相は、 180° (^{13}C) 印加、非印加にかかわらず同一であるから、2 種類のパルスシーケンスから得られるスピネコー (SE) 信号の差分をとることによって $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 信号のみを編集することができる。この差分スペクトル取得の結果、 ^1H 化学シフト (δ_{H}) 上でピークが分離されたスペクトルを取得することができる。さらに、検出期での ^{13}C デカップリングを非印加とすると J_{CH} で分離したピークが得られる。

しかし、脳代謝計測にとって重要なグルタミン酸やグルタミンの分離は、化学式がほぼ同等 (図 1-1) であるため、それぞれの δ_{H} が近接しており^{[2-14], [2-15]}、POCE 法では不均一系である *in vivo* でのピーク分離は不可能である。さらに、それぞれの分子内の ^1H 、 ^1H 間の同核種スピンスピン結合 (J_{HH}) によってもピークが分裂するため、観測をより困難としている^{[2-14], [2-15]}。

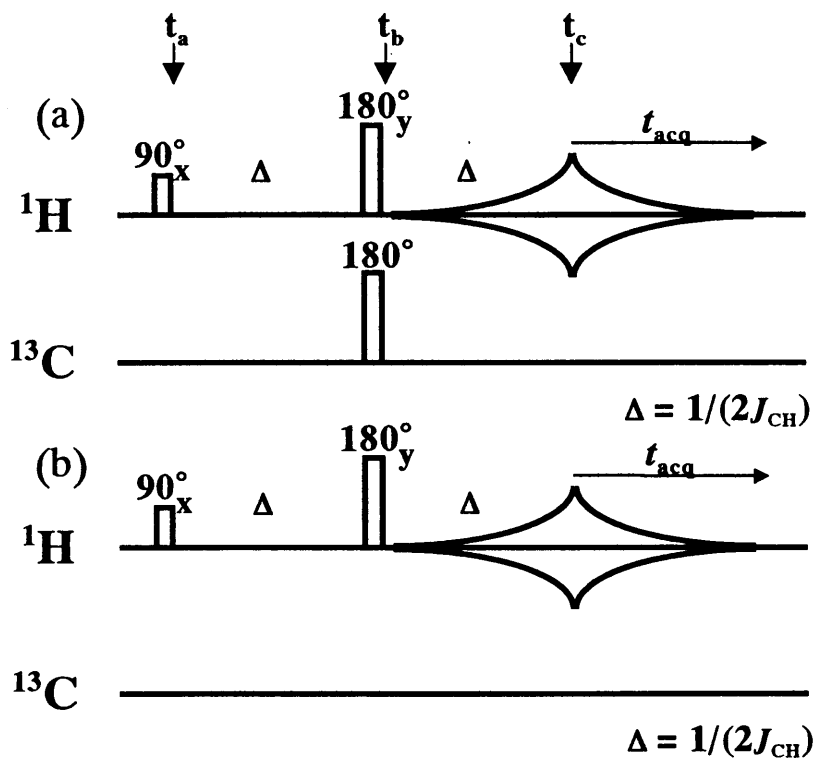


図 2-5 POCE シーケンス。180° (${}^{13}\text{C}$) パルスの印加、非印加での SE 信号の差分により、 ${}^1\text{H}[{}^{13}\text{C}]$ 信号のみを編集する。

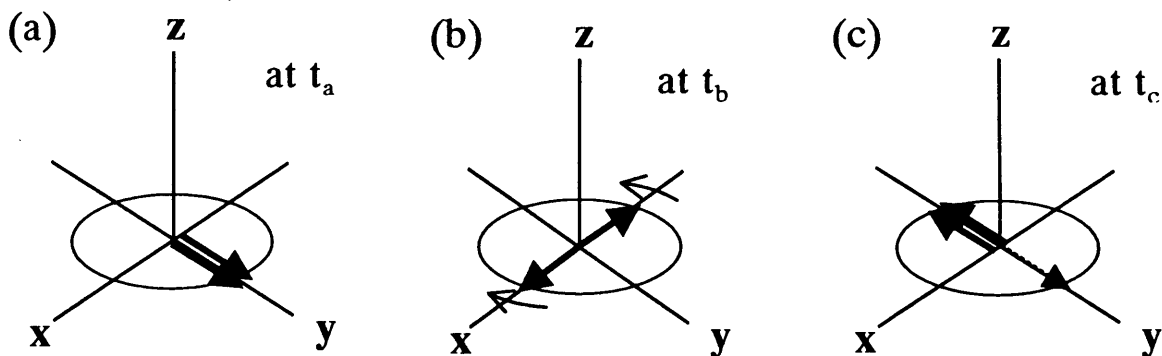


図 2-6 POCE シーケンスでの ${}^1\text{H}[{}^{13}\text{C}]$ 磁化ベクトル (実線) の動きを示す。時刻は、図 2-5 のパルスシーケンス上に示している。 ${}^1\text{H}$ 化学シフトは考慮していない。90° (${}^1\text{H}$) パルスで励起された ${}^1\text{H}[{}^{13}\text{C}]$ 磁化は、 $1/(2J_{\text{CH}})$ 後に反位相となる (b)。180° (${}^1\text{H}$, ${}^{13}\text{C}$) パルス (図 2-5 (a)) で J_{CH} によりさらに展開し、 $1/J_{\text{CH}}$ 後に $-y$ 位相の SE 信号を形成する (c)。一方、180° (${}^{13}\text{C}$) パルス非印加の場合 (図 2-5 (b)) には、 y 位相となる。 J_{CH} カップリングの無い ${}^1\text{H}$ 磁化はいずれの場合も y 位相の SE 信号を形成する ((c) の点線) ため、差分スペクトルにより ${}^1\text{H}[{}^{13}\text{C}]$ 信号のみを検出できる。

これに対して異核種シフト相関法である HMQC (図 2-7) や HSQC (図 2-8) では、 ^1H 、 ^{13}C の 2 次元化^{[2-17], [2-18]}により広い化学シフト範囲を有する ^{13}C 化学シフトを利用できるため、*in vivo* 上でもグルタミン酸とグルタミンの分離が可能となる。実際に、Johns Hopkins 大のグループでは 4.7T 動物用 MRI 装置を用いてネコ脳の 2D ^1H - ^{13}C HMQC スペクトルを取得し、グルタミン酸とグルタミンの分離に成功している^[2-19]。

これらの異核種シフト相関法は、いずれも準備期で ^1H と ^{13}C のコヒーレンスを生成した後に、展開期 (t_1 期) にて ^{13}C 化学シフトにより展開し、上記コヒーレンスに ^{13}C 化学シフト情報を付与する。この後、コヒーレンスを ^1H に移動し、検出期 (t_2 期) での ^1H 感度での観測が可能となる。

このうちの HMQC は 90° (^1H) パルス印加後すなわち $1/(2J_{\text{CH}})$ 後に 90° (^{13}C) を印加して ^1H と ^{13}C の 0 量子および 2 量子、すなわち多量子コヒーレンスを生成する。続く t_1 期にて ^{13}C 化学シフト情報を付与した後に再度 90° (^{13}C) パルスを印加して ^1H の 1 量子コヒーレンスを生成し、 ^1H の磁気共鳴信号の観測が可能となる。これを昇降演算子で示すと $I^0 \rightarrow I^+ \rightarrow I^+S^+ \rightarrow I^-S^+ \rightarrow I^-$ および $I^0 \rightarrow I^+ \rightarrow I^+S^- \rightarrow I^-S^- \rightarrow I^-$ で表せ、コヒーレンス径路は図 2-7 に示した様になる。

これに対して HSQC では、準備期の $1/(2J_{\text{CH}})$ の期間に INEPT シーケンスを利用して ^{13}C の 1 量子コヒーレンスを生成する。続く t_1 期にて ^{13}C 化学シフト情報を付与した後に ^{13}C から ^1H に分極移動を生起する逆 INEPT シーケンスを印加し、 ^1H の 1 量子コヒーレンスを生成し、 ^1H 感度での観測を可能とする。HMQC の場合と同様に昇降演算子で表すと、 $I^0 \rightarrow I^+ \rightarrow I^- \rightarrow S^- \rightarrow I^+ \rightarrow I^-$ および $I^0 \rightarrow I^+ \rightarrow I^- \rightarrow S^+ \rightarrow I^+ \rightarrow I^-$ で表すことができる (図 2-8)。

これらの HMQC、HSCQ いずれの方法でも、 ^1H 化学シフト (δ_{H}) と ^{13}C 化学シフト (δ_{C}) の 2 次元化が可能である。この 2 次元化のために、 t_1 期の時間長を変化させて複数回のデータ収集を行い 2 次元データセット $S(t_1, t_2)$ を取得する。データ取得後、2 次元フーリエ変換 (2D フーリエ変換) を施すことによって ^1H 感度で 2D ^1H - ^{13}C 相関スペクトルを取得できる。この結果、 ^1H 化学シフト軸 (F_2 軸) 上では、POCE スペクトルと同様、 δ_{H} 、 J_{HH} 、および検出期での ^{13}C デカップリング非印加の場合には J_{CH} が検出される。そして、これに加えて ^{13}C 化学シフト軸 (F_1 軸) 上での δ_{C} によ

るピーク分離が可能となる。この結果、上述の通り δ_H が近くかつ J_{HH} のために 1H 化学シフト軸上のみでは困難であったグルタミン酸とグルタミンの分離が可能となる。

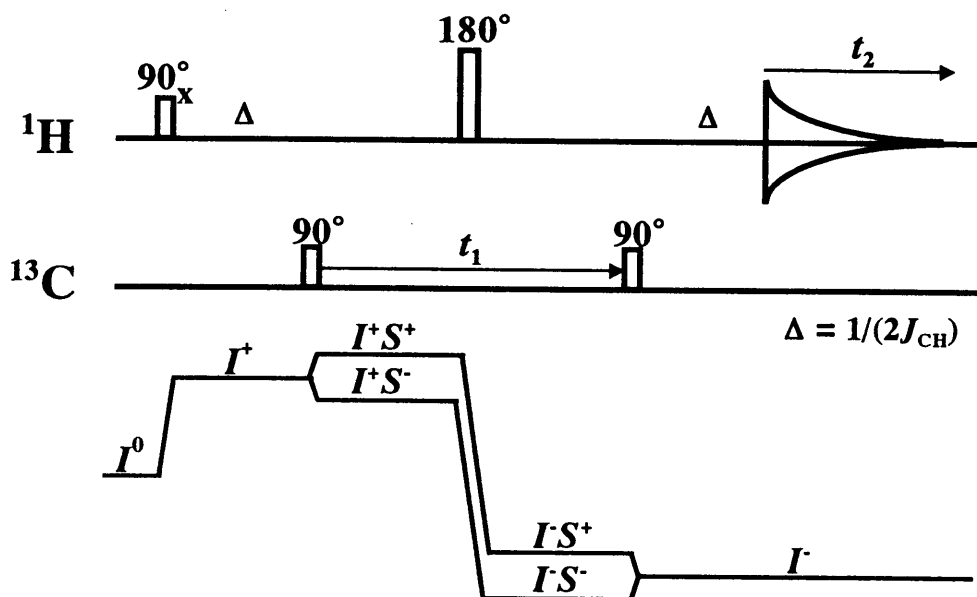


図 2-7 HMQC シーケンスとコヒーレンス径路。展開期 (t_1) にて多量子コヒーレンスが生成される。

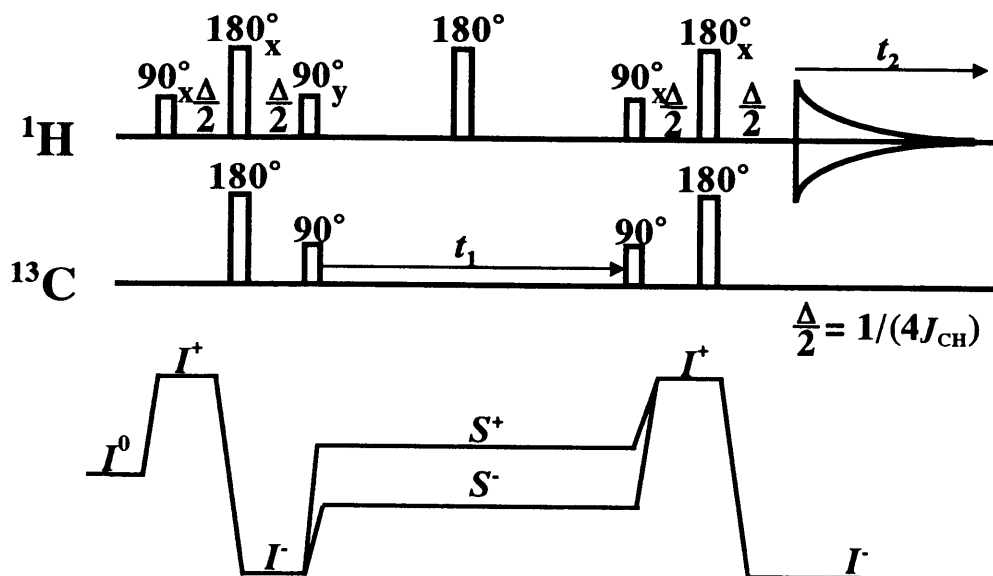


図 2-8 HSQC シーケンスとコヒーレンス径路。展開期 (t_1) にて ^{13}C の 1 量子コヒーレンスが生成される。

しかし、グルタミン酸やグルタミンといった J_{HH} カップリングを有する IS スピン系に対しては、HSQCの方がHMQCよりも優れている。この差は t_1 期での ^1H 磁化ベクトルの状態の差から生じる^[2-20]。すなわち HSQC では、INEPT によって生成される反位相の $^{13}\text{C}[^1\text{H}]$ 磁化は t_1 期に J_{HH} カップリングには依存せずに ^{13}C 化学シフトのみで展開する。この結果、 J_{HH} は F_2 軸上でのみ観測される（図 2-9 (a)）。これに対して、HMQC では、 ^1H 磁化および ^{13}C 磁化がいずれもが横磁化である多量子コヒーレンスが t_1 期に展開し、すなわち J_{HH} は t_1 期、 t_2 期のいずれにおいても展開することとなる。この結果、図 2-9 (b) に示す通り、 δ_{H} と δ_{C} の 2D 平面上で斜めに傾いた多重線パターンを示す^[2-21]。4.7T でのネコ脳の 2D HMQC スペクトル^[2-19] に示されている様にこの J_{HH} カップリングは *in vivo* 上では分離することが困難であるため、HMQC では F_2 方向だけではなく F_1 方向にも線幅が広がり、この結果 HSQC と比較してピーク強度が低下し、かつ F_1 方向の分解能が低下する。さらに、特に巨大分子に対しては t_1 期の HMQC の T_2 緩和は HSQC よりも早い^[2-21]。以上より、 J_{HH} カップリングを有するグルタミン酸やグルタミン等に対しては、 ^1H 観測法の中で HSQC が最良の方法である。

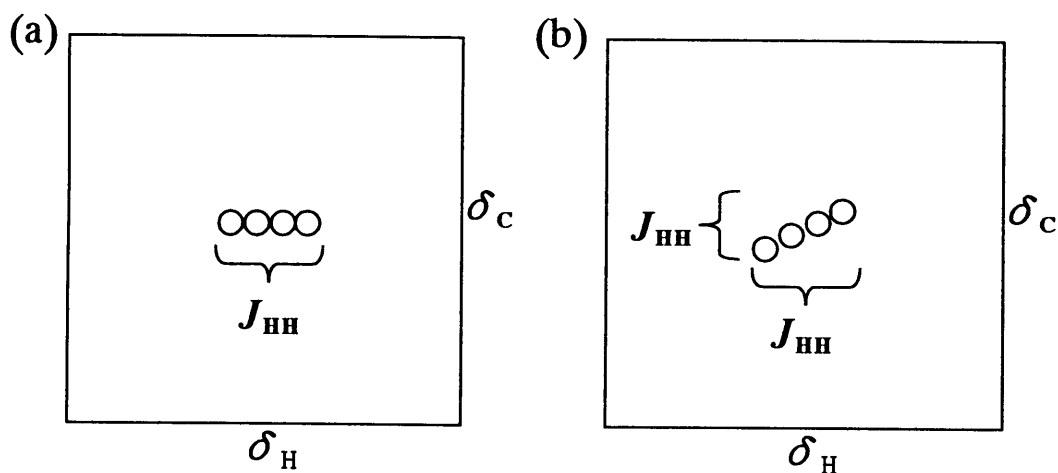


図 2-9 2D HSQC では t_1 にて J_{HH} 展開は生じないため、 F_2 (δ_{H}) 領域上でのみ分裂する (a)。一方、2D HMQC では、 t_1 にて J_{HH} により展開するため、斜めのスペクトルパターンとなる (b)。*in vivo* スペクトルでは J_{HH} は分離できないため、HMQC では線幅が広がり、ピーク強度が低下する。

2. 3 まとめ

本章では、これまでに NMR スペクトロメーターにおいて開発されてきた ^{13}C NMR パルスシーケンスに関して ^{13}C 観測法および ^1H 観測法の両面から洞察し、検討を行った。検討項目は、感度特にグルタミン酸等の J_{HH} カップリングを有するスピン系に対する感度、局所化、スペクトル分解能、およびデカップリングパルスによる発熱である。表 2-1 には、さらに ^1H 観測で重要な水信号抑圧についても列挙している。

表 2-1 ^{13}C MRS パルスシーケンスの比較

*1 グルタミン酸等の J_{HH} カップリングを有するスピン系に対する感度

*2 分極移動 (polarization transfer: PT)

*3 NOE は原理的にデカップリングが必要。PT、POCE では 1D 軸上でピークを分解するためデータ収集時に印加必要。HMQC、HSQC では 2D 上でピーク分解が可能であり、必ずしも印加の必要は無い。

*4 ^1H 観測法では水信号の抑圧が必要。POCE では周波数選択による抑圧が必要となるが、HMQC、HSQC ではロバストな方法である勾配磁場パルスを用いたコヒーレンス選択法を用いることができる。(詳細は、第 4. 2. 3 節にて説明する。)

	^{13}C 観測法		^1H 観測法		
	NOE	PT*2	POCE	HMQC	HSQC
感度*1	×	△	○	○	◎
局所化	×	○	○	○	○
ピーク分離	○	○	×	△	△
デカップリング*3	×	△	△	○	○
水信号抑圧*4			△	○	○

以上より、最適な ^{13}C 観測法および ^1H 観測法に関して以下の様に論ずることができる。

- (1) 代謝物分離に優れる ^{13}C 観測法では、高感度と局所化性能の2点がパルスシーケンスに要求される。分極移動法は、 ^1H の分極を利用して ^{13}C 観測を行う方法であり、感度の点で NOE による信号増強よりも優れる。さらに、 ^1H で局所化を行った後に、局所領域内で ^1H から ^{13}C の分極移動を行えるため、局所化の点でも優れる。すなわち、 ^{13}C 観測法では、分極移動法である INEPT あるいは DEPT が優れている。
- (2) 高感度で優れる ^1H 観測法では、代謝物分離性能がパルスシーケンスに要求される。このうちで異核種シフト相関法は ^1H 、 ^{13}C の2D化により ^{13}C 化学シフト軸上でのピーク分離が可能となるため、優れている。この方法には、HMQC と HSQC があるが、 t_1 期での ^1H 磁化ベクトルの状態の差から J_{HH} カップリングを有するグルタミン酸やグルタミン等の代謝物に対して HSQC が優れている。従って、 ^{13}C NMR パルスシーケンスのうちで、高感度で優れる ^1H 観測法である HSQC が最も優れていると言える。
- (3) 最大の課題である高感度化の点で優れるという点で、HSQC が *in vivo* 計測に最も適している。すなわち、HSQC は *in vivo* 計測において特に重要な要素である高感度化、局所化、代謝物の分離を全て満足するパルスシーケンスであると言える。

参考文献

- [2-1] H. Watanabe, Y. Ishihara, K. Okamoto, K. Oshio, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, "*In vivo* 3D localized ^{13}C spectroscopy using modified INEPT and DEPT", J. Magn. Reson., vol. 134, pp. 214-222, 1998.
- [2-2] H. Watanabe, Y. Ishihara, K. Okamoto, K. Oshio, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, "3D localized ^1H - ^{13}C heteronuclear single-quantum coherence correlation spectroscopy *in vivo*", Magn. Reson. Med., vol. 43, pp. 200-210, 2000.
- [2-3] J. H. Noggle and R. E. Schirmer, "The nuclear Overhauser effect, chemical applications", New York, Academic Press, 1971.
- [2-4] D. M. Doddrell, D. T. Pegg, and M. R. Bendall, "Distortionless enhancement of NMR signals by polarization transfer", J. Magn. Reson., vol. 48, pp. 323-327, 1982.
- [2-5] M. R. Bendall, D. T. Pegg, D. M. Doddrell, J. Field, "NMR of protons coupled to ^{13}C nuclei only", J. Am. Chem. Soc., vol. 103, pp. 934-936, 1981.
- [2-6] R. Freeman, T. H. Mareci, G. A. Morris, "Weak satellite signals in high-resolution NMR spectra: separating the wheat from the chaff", J. Magn. Reson., vol. 42, pp. 341-345, 1981.
- [2-7] D. L. Rothman, K. L. Behar, H. P. Hetherington, J. A. den Hollander, M. R. Bendall, O. A. C. Petroff, R. G. Shulman, " ^1H -observe/ ^{13}C -decouple spectroscopic measurements of lactate and glutamate in the rat brain *in vivo*", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 82, pp. 1633-1637, 1985.
- [2-8] L. Müller, "Sensitivity enhanced detection of weak nuclei using heteronuclear multiple quantum coherence", J. Am. Chem. Soc., vol. 101, pp. 4481-4484, 1979.
- [2-9] A. Bax, R. H. Griffey, B. L. Hawkins, "Sensitivity-enhanced correlation of ^{15}N and ^1H chemical shifts in natural-abundance samples via multiple quantum coherence", J. Am. Chem. Soc., vol. 105, pp. 7188-7190, 1983.
- [2-10] A. Bax, R. H. Griffey, B. L. Hawkins, "Correlation of proton and nitrogen-15 chemical shifts by multiple quantum NMR", J. Magn. Reson., vol. 55, pp. 301-315, 1983.
- [2-11] M. R. Bendall, D. T. Pegg, D. M. Doddrell, "Pulse sequences utilizing the correlated motion of coupled heteronuclei in the transverse plane of the doubly rotating frame", J. Magn. Reson., vol. 52, pp. 81-117, 1983.

- [2-12] D. I. Hoult and R. E. Richard, "The signal-to-noise ratio of the nuclear magnetic resonance experiment", J. Magn. Reson., vol. 24, pp. 71-85, 1976.
- [2-13] D. I. Hoult and P. C. Lauterbur, "The sensitivity of the zeumatographic experiment involving human samples", J. Magn. Reson., vol. 34, pp. 425-433, 1979.
- [2-14] T. Ernst and J. Hennig, "Coupling effects in volume selective ^1H spectroscopy of major brain metabolites", Magn. Reson. Med., vol. 21, 82-96, 1991.
- [2-15] V. Govindaraju, V. J. Basus, G. B. Matson, A. A. Maudsley, "Measurement of chemical shifts and coupling constants for glutamate and glutamine", Magn. Reson. Med., vol. 39, pp. 1011-1013, 1998.
- [2-16] N. Beckmann, I. Turkai, J. Seeling, U. Keller, " ^{13}C NMR for the assessment of human brain glucose metabolism *in vivo*", Biochemistry, vol. 30, pp. 6362-6366, 1991.
- [2-17] R. R. Ernst, G. Bodenhausen and A. Wokaun, "Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions," Oxford, Clarendon Press, 1987.
- [2-18] R. R. エルスト, G. ボーデンハウゼン, A. ウォーガン共著, 永山国昭, 藤原敏道, 内藤晶, 赤坂一之共訳, "エルスト 2 次元 NMR 原理と測定法", 京都, 吉岡書店, 1991.
- [2-19] P. C. M. van Zijl, A. S. Chesnick, D. DesPres. C. T. W. Moonen, J. Ruiz-Cabello and P. van Gelderen, "*In vivo* proton spectroscopy and spectroscopic imaging of $\{1\text{-}^{13}\text{C}\}$ -glucose and its metabolic products", Magn. Reson. Med., vol. 30, pp. 544-551, 1993.
- [2-20] C. Griesinger, H. Schwalbe, J. Schleucher and M. Sattler, in "Proton-Detected Heteronuclear and Multidimensional NMR" (W. R. Croasmun, R. M. K. Carlson, "Two-Dimensional NMR Spectroscopy, Application for Chemists and Biochemists, Second Edition"), pp. 457-580, New York, VCH Publishers Inc., 1994.
- [2-21] G. Gemmecker and H. Kessler, in "Methodology and applications of heteronuclear and multidimensional ^{13}C NMR to the elucidation of molecular structure and dynamics in the liquid state", (N. Beckmann, editor, "Carbon-13 NMR spectroscopy of biological systems", pp. 7-64, San Diego, Academic Press, 1995.

第3章 局所励起分極移動法^{[3-1], [3-2]}

3.1 序

第2章では、全身用 MRI 装置上での実現に対して ^{13}C 観測法において分極移動法が最も優れていることを論じた。この章では、局所領域からの ^1H から ^{13}C への分極移動信号を取得することを可能とした局所励起 INEPT シーケンス^[3-1]を提案する。

これまでも分極移動の局所化に関する幾つかのアイデアが提案されていた。この一つの方法では、まず所望の領域外の ^1H 信号を 90° 選択励起パルスで局所励起した後、勾配磁場パルスを印加して ^1H 信号を擬似飽和する。その後 INEPT や DEPT を印加して、所望の領域内の信号を取得する方法である（図3-1(a)）^{[3-3], [3-4]}。しかし、この方法では擬似飽和後の縦磁化の T_1 回復による領域外からの信号の混入が問題であった。また、 $90^\circ (^1\text{H}) - 90^\circ (^1\text{H})$, $90^\circ (^{13}\text{C})$ で構成される分極移動パルスの2つの $90^\circ (^1\text{H})$ パルスを選択励起パルスとしてスライス勾配磁場パルスと同時に印加する方法が考案された（図3-1(b)）^[3-5]が、空間2次元の局所化に留まり、かつ分極移動効率が ^1H 化学シフトに依存するため S/N が代謝物に依存するという問題があった。このため、 ^1H 化学シフトを再結像して分極移動を起こす INEPT や DEPT での局所励起シーケンスが望ましい。しかし、 ^1H パルスと ^{13}C パルスの同時印加シーケンスであるため、選択励起パルスとして勾配磁場パルスと同時に印加してスライス面の選択をする際に ^{13}C 化学シフトによる代謝物間の位置ずれの問題があった（第1.1.3節）。

これに対して、この章では全ての ^1H パルス、 ^{13}C パルスを非同期で印加することを可能とする修正 INEPT シーケンスを提案する。局所励起 INEPT シーケンスはこの修正 INEPT シーケンスを局所励起に応用したシーケンスである。以下、本方法の原理を説明し、分極移動効率を損なわないための RF 位相調整について説明する。さらに、*in vivo* 応用の際の RF コイル構成として最も簡便な方法であるサーフェスコイルを用いる際に必要な位相サイクリングについて言及する。そして、ファントム実験により本方法の基本性能を実証し、本方法を用いて1位標識グルコース投与後のサル脳アミノ酸代謝計測を実施し、*in vivo* での性能を実証する。

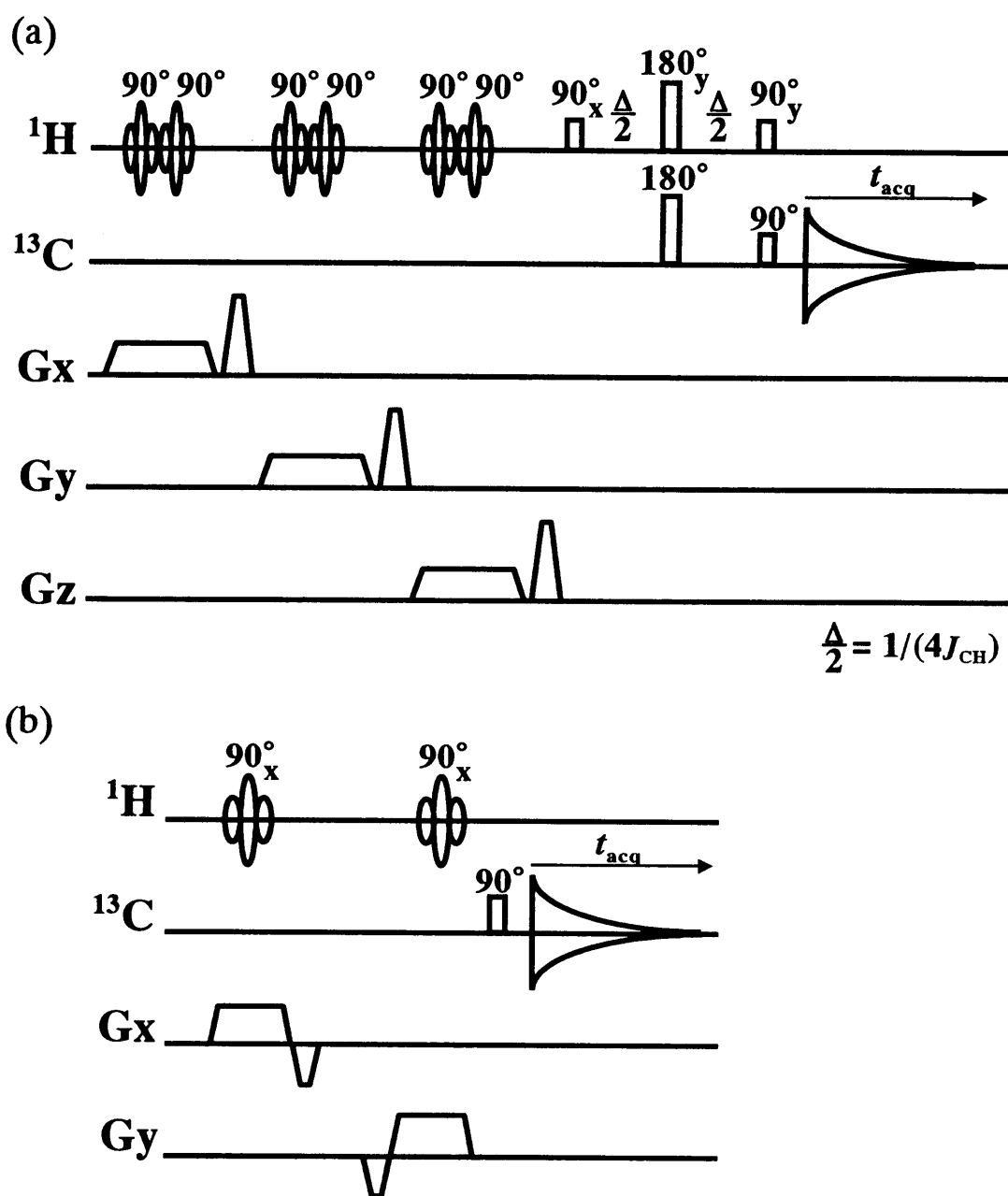


図3-1 分極移動を局所化に応用した従来のパルスシーケンス。(a)は、領域外の ^1H スピンを 90° (^1H) パルスで励起した後クラッシャー勾配磁場パルスで擬似飽和する領域外飽和パルスをプリパルスとして用いる方法。この方法では、 T_1 による信号回復のため、所望の部位のみの信号を取得することは困難である。

(b)は、 ^1H 化学シフト展開を再結像できないため、分極移動の効率が ^1H 化学シフトに依存する。

3. 2 局所励起分極移動シーケンス

3. 2. 1 局所励起分極移動シーケンスの原理

INEPT は 3 つの ^1H パルスを含む (図 3-2 (a))。しかし、第 2 番目の ^1H パルスである $180^\circ (^1\text{H})$ パルスと第 3 番目の ^1H パルスである $90^\circ (^1\text{H})$ パルスは ^{13}C パルスと同時に印加するパルス列となっている。従って、序章で述べた ^{13}C 化学シフトによる代謝物間の位置ずれが生じ、従来のパルス列の形態を直接局所励起に応用することはできない。そこで、これらのパルスのうちで第 3 番目の ^1H パルスを、第 2 番目の ^{13}C パルスと非同期で印加するパルスシーケンス^{[3-6], [3-7]}を用いる。この様に非同期で印加可能であるのは次の理由による。すなわち、INEPT パルス列のうちで 3 つの ^1H パルスと $180^\circ (^{13}\text{C})$ パルスと $2I_zS_z$ すなわち縦 2 スピン秩序が形成され、これは ^1H 磁化、 ^{13}C 磁化共に縦磁化の状態、すなわちオブザーバブルな磁化が無い状態であり、時間発展しない。従って、これに続いて第 2 番目の ^{13}C パルスを印加することで ^1H から ^{13}C の分極移動を生起することが可能であり、この結果 $90^\circ (^{13}\text{C})$ パルスを非同期で印加でき (図 3-2 (b))、従って第 3 番目の ^1H パルスを選択励起パルスとして用いることができるためである。

この章で提案する修正 INEPT シーケンスでは、分極移動効率を損なうことなく、さらに残る第 2 番目の $180^\circ (^1\text{H})$ パルスと $180^\circ (^{13}\text{C})$ パルスとを非同期で印加することを可能とするパルスシーケンスである (図 3-2 (c))。このパルスシーケンスの特徴は、 $180^\circ (^1\text{H}, ^{13}\text{C})$ パルスの役割を明確化し、これらの RF パルスを非同期で印加できることに着目した点にある。すなわち、INEPT の $90^\circ - \tau - 180^\circ - \tau$ パルス列は時刻 2τ で ^1H スピンエコーを形成し、このパルス列を構成する $180^\circ (^1\text{H})$ パルスは ^1H 化学シフトおよび J_{CH} による展開を再結像する役割を有する。一方、 $180^\circ (^{13}\text{C})$ パルスは ^{13}C スピンを反転させる役割を有し、このパルスによって ^1H [^{13}C] 二重線磁化ベクトル ($2I_yS_z$ の型の演算子) の J_{CH} による展開方向が反転する。この結果、 J_{CH} による展開は再結像せずにデフューズする。最適な分極移動の生成には反位相 $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 二重線磁化ベクトルを生成する必要がある (第 2. 2. 1 節の図 2-4 (d))。このためには J_{CH} によって $\Delta = 1/(2J_{\text{CH}})$ の時間展開が必要であるが、これは $180^\circ (^{13}\text{C})$ パルスを、時刻 2τ で印加する第 3 番目の ^1H パルスよりも $1/(4J_{\text{CH}})$ 前 (図 3-2) あるいは第 1 番目の ^1H パルスよりも $1/(4J_{\text{CH}})$ 後に印加すれば可能となる。これらのいずれの場合でも、 J_{HH} による展開を無視すると、分極移動直

前の時刻 2τ での直積演算子は、 $I_y \cos(\pi J_{CH} \Delta) - 2I_x S_z \sin(\pi J_{CH} \Delta)$ となる。従って、 $\Delta/2 = 1/(4J_{CH})$ において $-2I_x S_z$ 、すなわち反位相 $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 二重線磁化ベクトルを生成することができる。すなわち、 τ 長に関係無い J_{CH} による Δ の時間展開が可能となる。従って、 $180^\circ (^1\text{H})$ パルスと $180^\circ (^{13}\text{C})$ パルスとを非同期で印加することが可能となり、この結果 $180^\circ (^1\text{H})$ パルスを選択励起パルスとして勾配磁場パルスと同時に印加することができる。但し、 $T_2 (^1\text{H})$ 緩和による信号減衰および $\cos(2\pi J_{HH} \tau)$ ^[3-7] で記述される J_{HH} による信号減衰を最小とするために τ 長はできるだけ短くする必要がある。具体的には、 τ 長は $\Delta = 1/(2J_{CH}) < 2\tau \ll 1/(2J_{HH})$ を満たす様に設定しなければならない。また、 δ_H や J_{HH} の展開を無視すると、図 3-2 (c) に示したパルスシーケンスでの直積演算子は以下の様に展開でき、従来の INEPT と同様 $-2I_x S_y$ の演算子に発展し、 ^1H から ^{13}C への分極移動信号を観測できることが証明できる。

$$\begin{aligned}
I_z &\xrightarrow{90^\circ_x(^1\text{H})} -I_y && \text{at } t_a \\
&\xrightarrow{\tau} \xrightarrow{180^\circ_x(^1\text{H})} \xrightarrow{\tau - \frac{1}{4J_{CH}}} \frac{1}{\sqrt{2}} I_y + \frac{1}{\sqrt{2}} 2I_x S_z && \text{at } t_b \\
&\xrightarrow{180^\circ(^{13}\text{C})} \frac{1}{\sqrt{2}} I_y - \frac{1}{\sqrt{2}} 2I_x S_z && \text{at } t_c \quad [3-1] \\
&\xrightarrow{\frac{1}{4J_{CH}}} -2I_x S_z && \text{at } t_d \\
&\xrightarrow{90^\circ_y(^1\text{H})} 2I_x S_z && \text{at } t_e \\
&\xrightarrow{90^\circ_x(^{13}\text{C})} -2I_x S_y
\end{aligned}$$

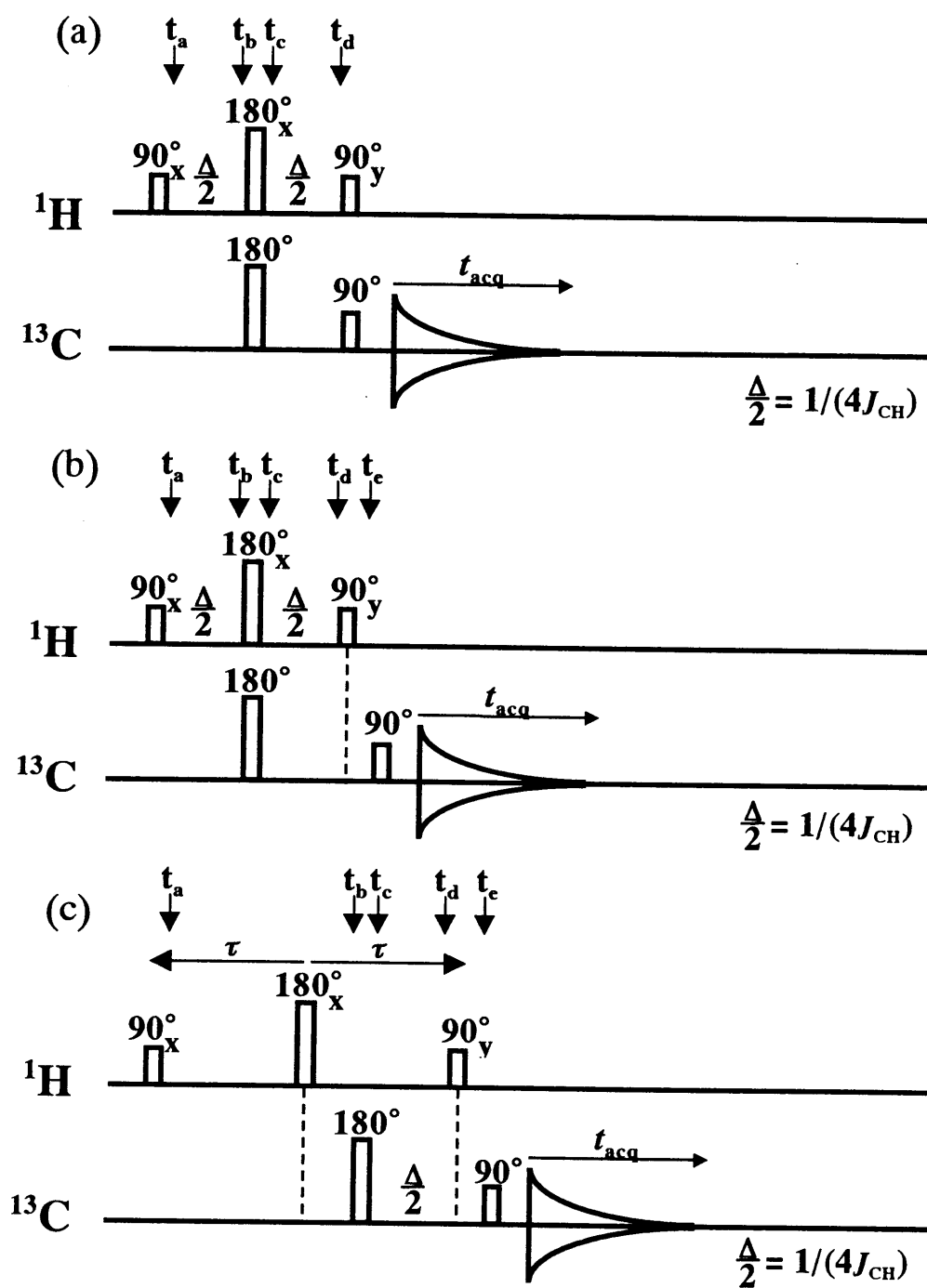


図3-2 INEPT パルス列 (a) に対して、 90° (^{13}C) パルスを 90° (^1H) パルスと非同期に印加することができる (b)。修正 INEPT では、分極移動の効率を劣化させずに、さらに 180° (^{13}C) パルスを 180° (^1H) パルスと非同期に印加することができる。

この修正 INEPT シーケンスを応用した局所励起 INEPT シーケンス (図 3-3) では、まず 90° (^1H) 選択励起パルスにより x 軸に垂直な面内の ^1H スピンを励起する。時間 τ 後に再結像 ^1H 選択励起パルスにより y 軸に垂直な面内の ^1H スピンが 180° 回転する。この結果、時刻 2τ にて x 軸、 y 軸の空間 2 次元で決定される柱状内の領域内の ^1H スピンがスピネコーを形成する。図 3-3 に示す G_{add} は、所望のコヒーレンスすなわち上記スピネコーのみを選択するための勾配磁場パルスであり、空間 3 軸のうちのどのチャンネルを用いても良い。これに続いて $2\tau - 1/(4J_{\text{CH}})$ 後に 180° (^{13}C) パルスを印加し、 ^{13}C スピンを反転する。これにより J_{CH} が展開し 2τ 後に上記柱状の領域内の ^1H スピン、 ^{13}C スピンが $-2I_x S_z$ を形成する。この演算子に対して、 ^1H 共鳴周波数で回転する回転座標系上で y 位相を有し、 z 軸に垂直なスライス面内に対して作用する 90° (^1H) 選択励起パルスを印加する。これにより上記 x 軸、 y 軸方向で局所化された柱状領域内と z 軸に垂直な面内の交差領域すなわち空間 3 次元で局所化された領域内の ^1H スピン、 ^{13}C スピンが縦 2 スピン秩序、 $2I_z S_z$ を形成する。これに続いて z 勾配磁場パルス印加終了後に 90° (^{13}C) パルスを印加することにより、上記 3 次元局所領域内で $-2I_z S_y$ すなわち ^1H から ^{13}C に分極移動した ^{13}C の 1 量子コヒーレンスが生成され ^{13}C 磁気共鳴信号が観測可能となる。

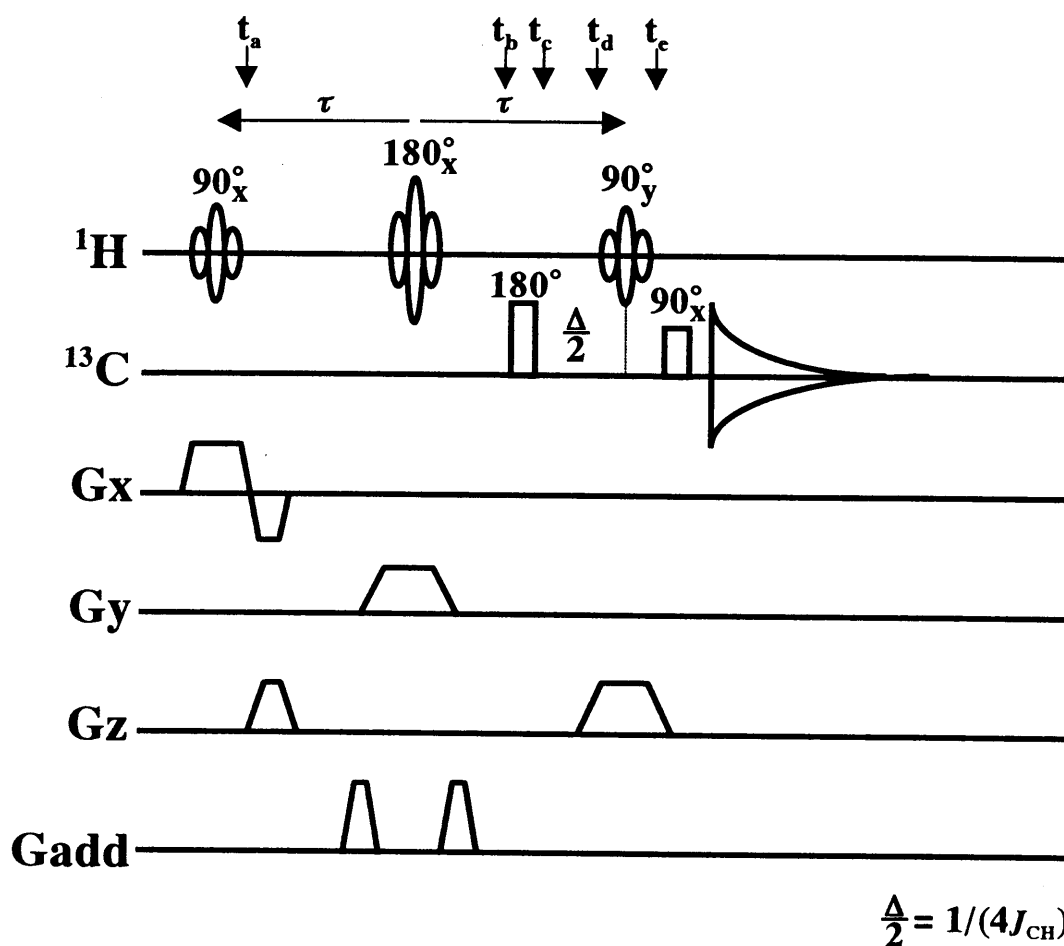


図 3-3 局所励起 INEPT シーケンス。本パルスシーケンスにより分極移動効率を損なうことなく、3D 局所領域内で ^1H から ^{13}C への分極移動を生成することが可能となる。

3.2.2 RF 位相調整法

勾配磁場パルスにより空間情報を付与する磁気共鳴診断装置では、静磁場コイルと勾配磁場コイルとのカップリングに起因し、勾配磁場パルス印加時に発生する磁場が生じる。これは B_0 シフトと呼ばれ、これにより磁化ベクトルは回転座標系の xy 平面上で回転する^[3-9]。局所励起 INEPT シーケンスの場合、これは分極移動の効率を劣化させる。例えば、図 3-3 の t_d で B_0 シフトにより磁化が $\Delta\theta$ 回転する場合、反位相の $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 磁化ベクトルは $\Delta\theta$ シフトし（図 3-4 (a)）、直積演算子は $-2I_x S_z \cos(\Delta\theta)$ となる。従って、これに y 位相を有する 90° (^1H) パルスを印加すると生成される縦 2 スピン秩序は $2I_x S_z \cos(\Delta\theta)$ となる。この結果、 90° (^{13}C) パルスによって生成される ^{13}C の 1 量子コヒーレンスは $-2I_x S_y \cos(\Delta\theta)$ となり、 $\Delta\theta$ に依存した

分極移動が生成される。つまり、分極移動の効率を最適とするために B_0 シフトに応じて第3番目の ^1H パルスの位相を調整する必要があり、具体的には $\pi/2 + \Delta\theta$ とすれば最適な効率で分極移動を生起することができる。

この調整のため、図3-5に示すシーケンスにより水の ^1H 信号から $\Delta\theta$ を計測する方法を提案する^[3-1]。まず、局所励起 INEPT シーケンスから勾配磁場パルスを除いた $90^\circ (^1\text{H}) - \tau - 180^\circ (^1\text{H}) - \tau$ で構成される SE パルス列 (図3-5 (a)) を印加して水信号を取得する。この水信号の位相を θ とする。次に、上記 SE パルス列に局所励起 INEPT シーケンスの勾配磁場パルスを加えたパルス列 (図3-5 (b)) を印加し、再度水信号を取得する。この水信号の位相を θ_0 とすると、 B_0 シフトによる位相回り $\Delta\theta$ は、 $\Delta\theta = \theta_0 - \theta$ で表せる。従って、第3番目の ^1H パルスの位相を $\pi/2 + (\theta_0 - \theta)$ に設定すれば $2I_z S_z$ を生起することができ、分極移動の効率を最大にすることができる。

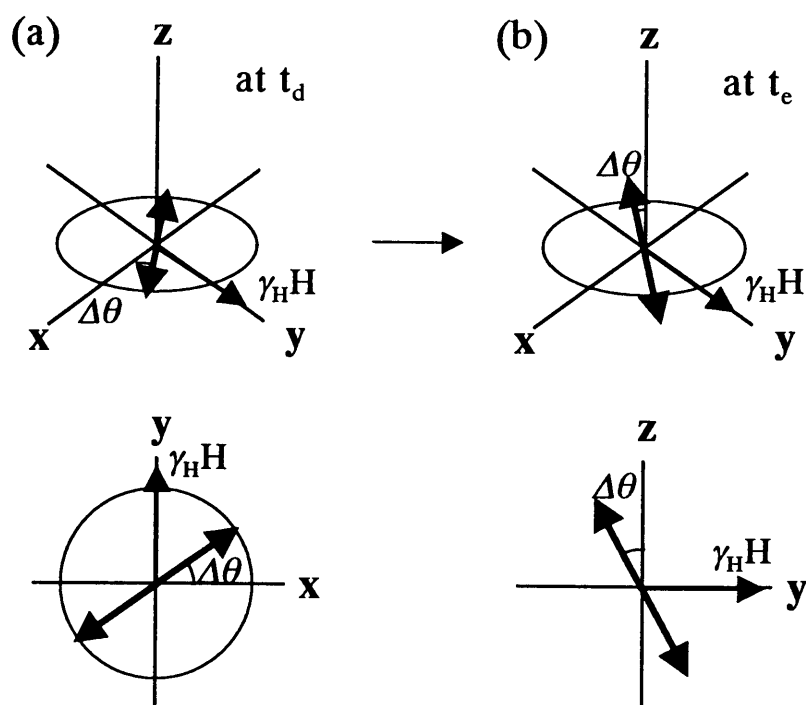


図3-4 B_0 シフトにより $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 磁化ベクトルの位相ずれが生ずる (a)。この結果、 $90^\circ_y (^1\text{H})$ パルスによって $2I_z S_z \cos(\Delta\theta)$ が生成され (b)、分極移動信号強度が $\cos(\Delta\theta)$ 倍となる。

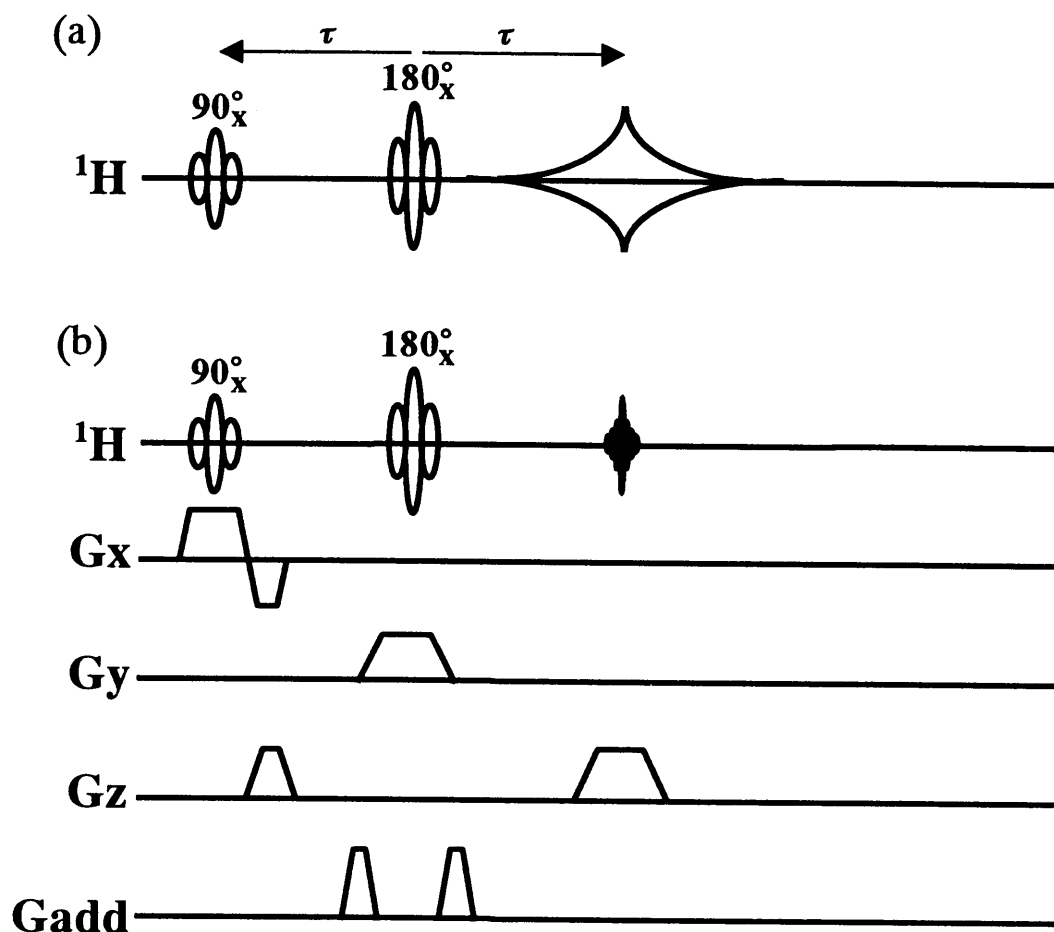


図3-5 局所励起 INEPT シーケンスの第3番目の ${}^1\text{H}$ パルスの位相を調整するためのパルスシーケンス。(a)、(b) のパルスシーケンスの印加により水 ${}^1\text{H}$ 信号を取得する。両者の位相差が、 B_0 シフト由来の $\Delta\theta$ に相当する。従って、上記 ${}^1\text{H}$ パルスの位相を $y + \Delta\theta$ とすることで効率の良い分極移動が達成できる。

3. 2. 3 位相サイクリングの設計

${}^{13}\text{C}$ MRS では、RF コイルとして最も簡便であるという理由からサーフェスコイルが良く使われ、例えば ${}^1\text{H}$ コイルと ${}^{13}\text{C}$ コイルの RF コイル形態として、例えば ${}^{13}\text{C}$ 円形、 ${}^1\text{H}$ 側はデカップル形状である8の字の形状をした RF コイル^[3-10] が良く使用される。しかし、サーフェスコイルは RF 分布すなわち B_1 分布が不均一であるという

欠点を有する。この結果送信フリップ角度の分布によるスペクトル歪みの影響が大きくなる。

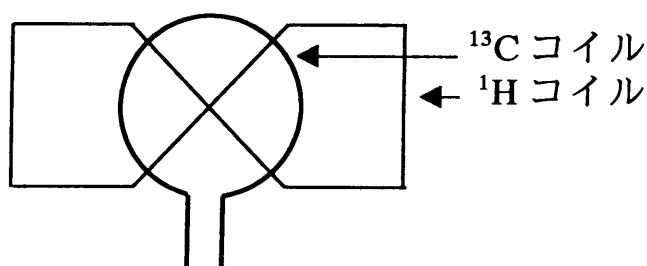


図3-6 ^1H 用と ^{13}C 用で構成されるサーフェスコイルの模式図。*in vivo* ^{13}C MRSにて頻繁に使用される。 ^1H コイルと ^{13}C コイルとのデカップルのため、 ^1H コイルを8の字形状としている。

この章ではこれを解決するための位相サイクリングを設計する。まず INEPT パルス列を任意のフリップ角で以下の様に記述する。

$$\begin{array}{l} ^1\text{H} \quad b_1 - b_2 - b_3 \\ ^{13}\text{C} \quad \quad b_4 - b_5 - (\text{データ収集}) \end{array}$$

次に上記パルス列の直積演算子を展開し、 b_5 以降のオブザーバブルを書き下す。このうち、 ^1H から ^{13}C への分極移動項は

$$\frac{i}{\sqrt{2}}(I_0S^+ + I_0S^-)\cos(b_2)\sin(b_1)\sin(b_3)\sin(b_5) \quad [3-2]$$

$$\frac{i}{\sqrt{2}}(I_0S^+ + I_0S^-)\cos(b_4)\sin(b_1)\sin(b_3)\sin(b_5) \quad [3-3]$$

$$i \cdot (I_0S^+ + I_0S^-)\cos(b_5)\sin(b_1)\sin(b_3)\sin(b_4) \quad [3-4]$$

$$i \cdot (I_0S^+ + I_0S^-)\cos(b_1)\sin(b_2)\sin(b_3)\sin(b_5) \quad [3-5]$$

であり、 ^{13}C パルス由来の分極移動以外の項は

$$(I_0S^+ + I_0S^-) \cos(b_3) \sin(b_4) \quad [3-6]$$

$$-\frac{i}{2}(I_0S^+ + I_0S^-) \cos(b_5) \sin(b_4) \quad [3-7]$$

$$-\frac{i}{\sqrt{2}}(S^+ + S^-) \cos(b_4) \sin(b_5) \quad [3-8]$$

である。分極移動項のうち、INEPT パルス列すなわち b_1 、 b_3 、 $b_5=90^\circ$ 、 b_2 、 $b_4=180^\circ$ にて信号が得られるのは、式 [3-2] および式 [3-3] である。従って、式 [3-2]、式 [3-3] 以外を消去するような位相サイクリングを設計すれば良い。位相の反転により直積演算子の符号が反転するのは、sin 項である。それぞれの項に対する sin を抽出すると表 3-1 の様になる。

表 3-1 オブザーバブルに対してフリップ角が sin で寄与する RF パルスを抽出した。

	b_1	b_2	b_3	b_4	b_5
式 [3-2]	sin		sin		sin
式 [3-3]	sin		sin		sin
式 [3-4]	sin		sin	sin	
式 [3-5]		sin	sin		sin
式 [3-6]				sin	
式 [3-7]				sin	
式 [3-8]					sin

従って、式 [3-2] および式 [3-3] は以下の 2 種類の 4 位相サイクルで抽出できる。すなわち、 b_1 位相 ($x, -x, x, -x$)、 b_4 位相 ($x, x, -x, -x$)、受信位相 ($x, -x, x, -x$) あるいは b_1 位相 ($x, x, -x, -x$)、 b_5 位相 ($x, -x, x, -x$)、受信位相 ($x, -x, -x, x$) である。

例えばエタノールの INEPT スペクトルでは、本来 CH_2 に対して 2 ピーク、 CH_3 に対して 4 ピークがそれぞれほぼ同等のピーク高さで得られる。しかし、 90° (^{13}C) パル

スおよび受信位相の反転のみの従来の2位相サイクルを用いてサーフェスコイルで取得したエタノールのINEPTスペクトルでは、 CH_2 、 CH_3 の両ピーク共に歪みを受けたスペクトルとなっている。これに対して、上記設計した4位相サイクルINEPTスペクトルでは、それぞれ同等のピーク高さを有する CH_2 、 CH_3 ピークが得られ、4位相サイクルの性能が実証された。

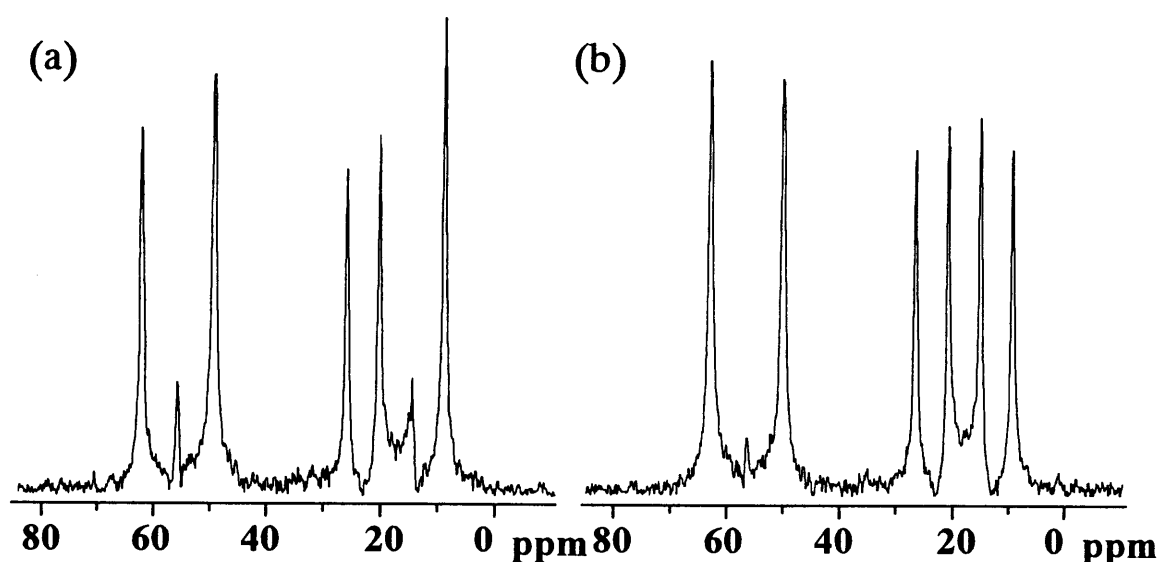


図3-7 送受信兼用サーフェスコイルを用いて従来のINEPTシーケンスにより取得したエタノールの絶対値スペクトル。 B_1 分布の不均一性のため、従来の2位相サイクルでは分極移動以外のコヒーレンスからの信号が含まれるため正しいINEPTスペクトルを取得することはできない(a)。一方、設計した4位相サイクルを用いたINEPTスペクトルでは、2本のピーク(CH_2)および4本のピーク(CH_3)の強度がそれぞれほぼ等しい歪みの無いINEPTスペクトルが得られる(b)。

3.3 ファントム実験による実証

3.3.1 方法

局所励起 INEPT シーケンスの性能を実証するために、 ^{13}C スペクトロスコピー研究用 2T 全身用 MRI 装置（東芝、日本）を用いてファントム実験を行った。使用した RF コイルは ^1H 用 85 MHz、 ^{13}C 用 21 MHz に同調をとりそれぞれ直交配置した鞍型コイルである。それぞれの RF コイルの直径は 185 mm (^1H 用) および 123 mm (^{13}C 用) である。ファントムには 2 層の亚克力円筒から構成されたファントムを用い、外側の円筒（直径 65 mm、長さ 90 mm）にはベビーオイル（Johnson & Johnson, USA）を、内側（直径 37 mm、長さ 70 mm）にはエタノール（99.5%、和光純薬、日本）を満たした（図 3-8）。上記ファントムを RF コイル内に設定し、従来の INEPT シーケンスにより信号を取得し、再構成によりスペクトルを得た。次に 3D 局所領域をエタノール円筒内に設定した局所励起 INEPT シーケンスを印加して信号を取得し、再構成後スペクトルを得た。位相サイクルには、第 3.2.3 節で論じた 4 位相サイクルを用いた。局所励起 INEPT シーケンスでは ^1H のエコー時間 $2\tau = 20$ ms、 $\text{TR} = 1$ s とした。 ^1H 選択励起パルスは全て時間幅 4 ms ($\pm 4\pi \text{sinc}$ 関数パルス)、 ^{13}C パルスは時間幅 $200 \mu\text{s}$ （矩形波パルス）とした。ディレイ $\Delta/2 = 1/(4J_{\text{CH}})$ は、 $J_{\text{CH}} = 140$ Hz に合わせた 1.8 ms とした。

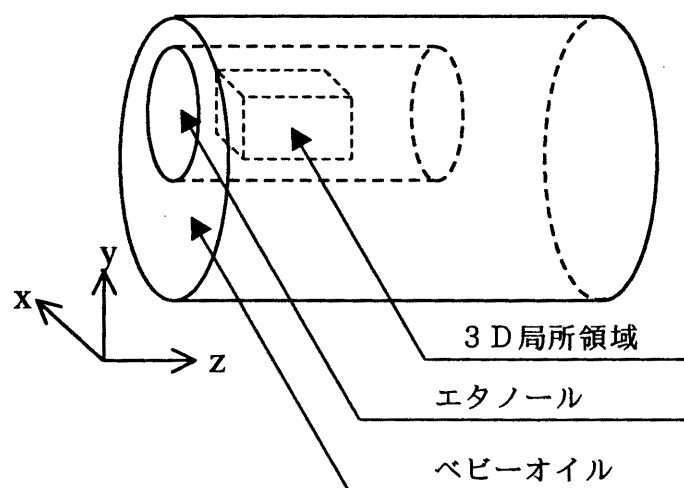


図 3-8 局所励起 INEPT の局所励起性能実証実験用ファントム模式図。3D 局所領域はエタノール内部に設定した。局所領域は、 $20(x) \times 20(y) \times 30(z) \text{ mm}^3$ とした。

3. 3. 2 結果

得られたそれぞれのスペクトルを図3-9に示す。従来のINEPTスペクトルでは、ベビーオイルのピークが混入したスペクトルが得られたのに対して、局所励起INEPTスペクトルではこれらのピークが消え、エタノールのみピークが得られた。これらのエタノールのピーク強度は、エタノール1位 (CH_2) に対しては1 : -1であり、エタノール2位 (CH_3) に対しては1 : 1 : -1 : -1であり、INEPTの吸収スペクトルで得られるパターンと同等であった。従って、局所励起INEPTシーケンスにより、 ^1H から ^{13}C への分極移動信号を3D局所領域から取得できることが実証された。

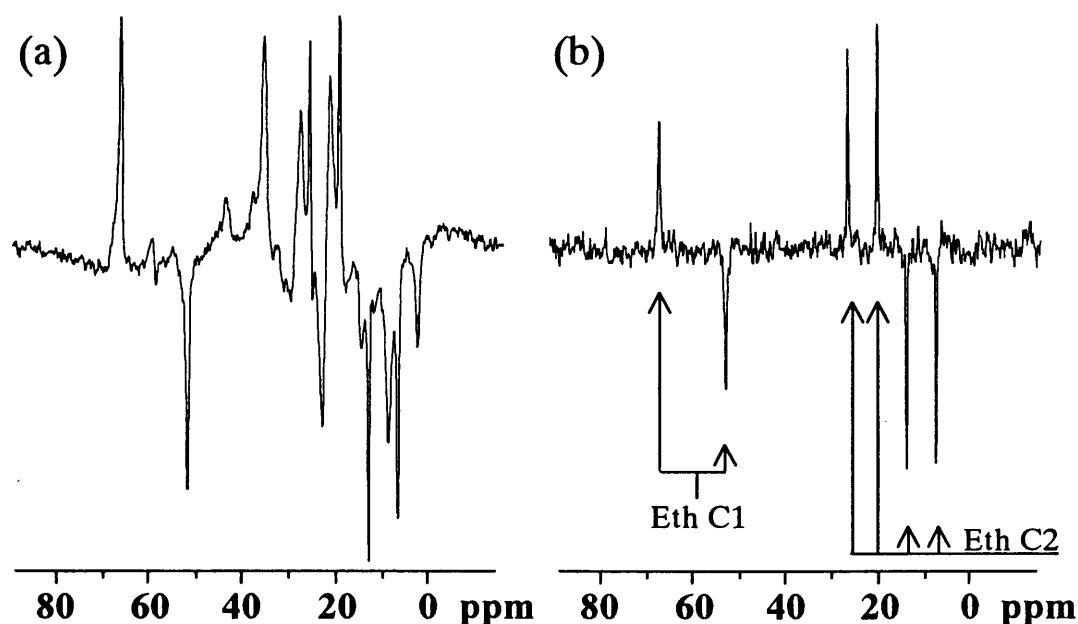


図3-9 エタノール円筒とベビーオイル円筒から構成されるファントムの非局所励起INEPTスペクトル(a)と局所励起INEPTスペクトル(b)。非局所励起INEPTスペクトルではベビーオイルが混入している。これに対し、局所励起INEPTスペクトルでは、ベビーオイル信号は混入せずに、エタノール1位(Eth C1)、2位(Eth C2)のそれぞれのピークが検出されている。

3. 4 局所励起 INEPT 法を用いたサル脳アミノ酸代謝計測

3. 4. 1 方法

局所励起 INEPT 法の *in vivo* での性能を実証するために $[1-^{13}\text{C}]$ D グルコースを用いたサル脳アミノ酸代謝計測を行った。装置には ^{13}C スペクトロスコピー研究用 2T 全身用 MRI 装置を用いた。パルスシーケンスには、位相補正のために ^{13}C 再結像パルスを、そして J_{CH} デカップルのために検出期に ^1H デカップリングパルスをそれぞれ印加する局所励起デカップル INEPT シーケンスを用い (図 3-10)、カニクイザル (*Macaca fascicularis*, female, 3.9 kg) の脳内 3D 局所領域 (32 ml ($40 \times 20 \times 40 \text{ mm}^3$)) からの分極移動信号を取得した。デカップリングパルスには WALTZ-4^[3-11]を用いた。RF コイルには図 3-6 で説明した $\phi 60 \text{ mm}$ 、4 ターンの ^{13}C 円形サーフェスコイルと $60 \times 100 \text{ mm}$ の ^1H 8 の字サーフェスコイルで構成される ^1H 、 ^{13}C サーフェスコイルを用いた。全ての ^1H 選択励起パルス幅は 4 ms ($\pm 4\pi$ sinc パルス) とし、 ^{13}C パルス幅は全て $200 \mu\text{s}$ (矩形波パルス) とした。ディレイ $\Delta/2$ および ^{13}C 分極移動パルスと ^{13}C 再結像パルスとのディレイはどちらも 1.8 ms とした。位相サイクルには第 3. 2. 3 節で論じた直積演算子展開による方法で以下の 8 位相サイクルを設計した。すなわち、第 1 の ^1H パルス位相 ($x, -x, x, -x, x, -x, x, -x$)、第 1 の ^{13}C パルス位相 ($x, x, -x, -x, x, x, -x, -x$)、第 3 の ^{13}C パルス位相 ($x, x, x, x, -x, -x, -x, -x$)、受信位相 ($x, -x, x, -x, x, -x, x, -x$) である。TR=1 s、サンプリング間隔は $235 \mu\text{s}$ とし、サンプリング数は 2048 とした。得られた信号に 10 Hz のローレンツ-ガウシアン窓関数を施し ^{13}C スペクトルを取得した。

サル脳アミノ酸代謝計測のプロトコルは以下の様にした。まず、ケタラル麻酔下^[3-12]のカニクイザルの頭上に上記サーフェスコイルを設置し、1 g の $[1-^{13}\text{C}]$ エタノール (99.3% 標識、ISOTEC、USA) を含む RF パワー調整用のレファレンスファントム ($\phi 10 \text{ mm}$) をサーフェスコイル上に設置した。これに続き磁石内に設置して RF コイルの同調、整合条件の調整後、頭部の水 ^1H 画像を取得し位置決めを行った (図 3-11 (a))。この ^1H 画像をもとに脳内の 3D 局所励起領域 (図 3-11 (b)) を決定し、水 ^1H 信号により磁場均一性調整 (シミング) を実施した。引き続き、レファレンスファントムの INEPT スペクトルを用いて ^1H および ^{13}C の RF パ

ワーを調整した。この後レファレンスファントムを頭上から取り除き RF 位相調整を実施し（第 3．2．2 節）、セットアップが完了した。

セットアップ完了後、まず 2 種類の非局所励起スペクトル（ ^1H デカップル NOE スペクトルおよびデカップル INEPT スペクトル）と局所励起デカップル INEPT シーケンスによる脳内局所励起スペクトルを取得した。TR はいずれも 1 s とし、NOE に対しては観測時間 5 分、INEPT および局所励起 INEPT に対しては 10 分とした。

引き続き、 $[1\text{-}^{13}\text{C}]$ D-グルコース（99%標識、1 g/kg 体重）を静注により投与し、局所励起デカップル INEPT シーケンスによる代謝物信号の時間変化を取得した。各々のスペクトルの観測時間、すなわち時間分解能は 10 分で、静注投与後 80 分まで観測を行った。

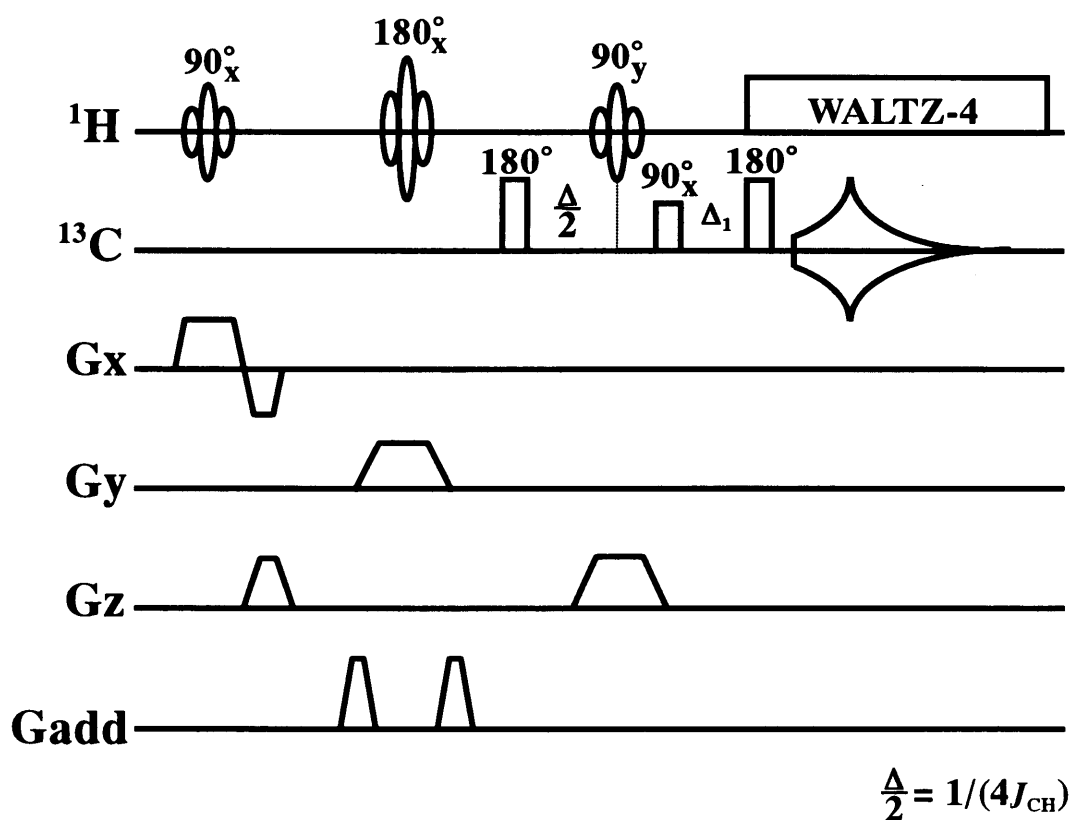


図 3 - 1 0 ^1H デカップル局所励起 INEPT シーケンス。

3. 4. 2 結果

標識グルコース投与前に取得した NOE スペクトル、デカップル INEPT スペクトルおよび局所励起デカップル INEPT スペクトルを図 3-12 に示す。非局所励起、すなわち頭部全体からの信号を取得した NOE スペクトルでは、頭皮脂肪の天然存在 ^{13}C のピーク、すなわち 30 ppm 近辺のメチレン由来、および 129 ppm 近辺のオレフィン由来のピークが検出されている^[3-13] (図 3-12 (a))。一方、RF パルス数が多いためサーフェスコイルの B_1 不均一分布の影響を受けるデカップル INEPT スペクトルでは、メチレン由来のピークは減少しオレフィン由来のピークは消失している (図 3-12 (b))。これに対して、局所領域を脳内に設定した局所励起デカップル INEPT スペクトルでは上記脂肪ピークはさらに減少しており、頭皮の脂肪の混入が減少している (図 3-12 (c))。

(a)



(b)

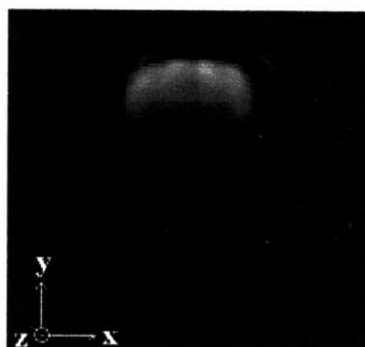


図 3-11 サル頭部 ^1H 冠状断面像 (a) と 3D 局所励起 ^1H 画像 (b)。局所励起デカップル INEPT により (b) の局所領域からの INEPT 信号を取得した。

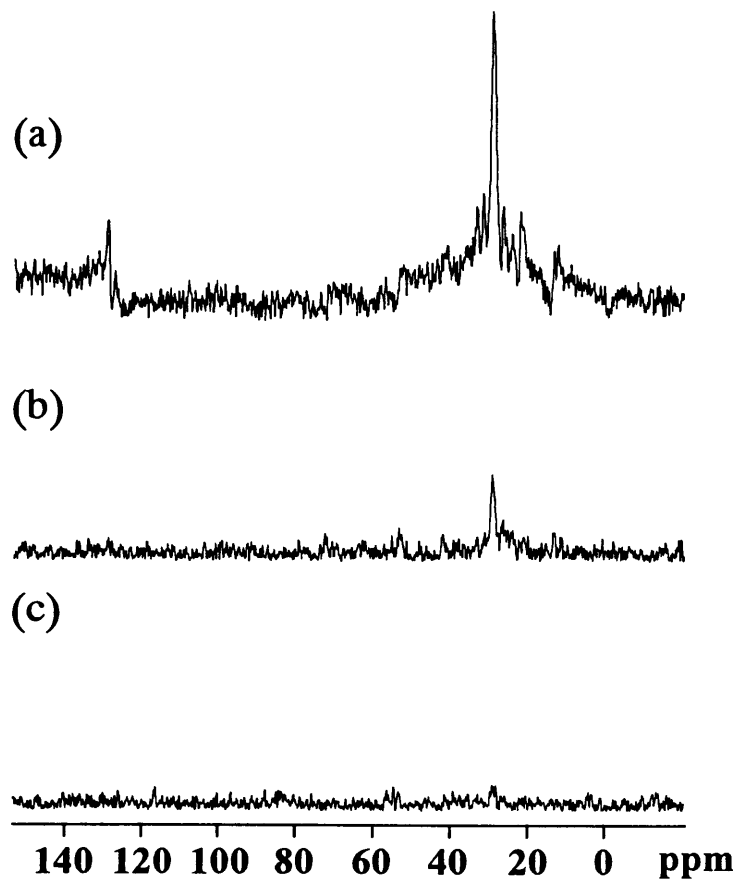


図3-12 サル頭部の ^{13}C スペクトル（絶対値表示）。非局所励起スペクトルでは頭皮の天然存在 ^{13}C の脂肪ピークが検出されている（NOE スペクトル（a）；デカップル INEPT スペクトル（b））。これに対して、局所励起デカップル INEPT スペクトルでは脂肪ピークが殆ど認められていない（c）。

標識グルコース投与後 70 分積算の 3D 局所励起 INEPT スペクトル (図 3-13) では、投与したグルコース 1 位 (α 位、 β 位) のピークと脳内でグルコースからの代謝により産生されたアミノ酸のピーク、すなわちグルタミン酸 2 位、3 位、4 位、グルタミン 2 位、3 位、4 位、アスパラギン酸 2 位、3 位が観測されている。さらに、約 0.5 ppm の化学シフト差であるグルタミン酸 2 位とグルタミン 2 位が明瞭に分離検出されている。図 3-14 に示すスペクトルの時系列プロットでは、投与したグルコース 1 位が時間経過と共に減少しグルタミン酸 4 位が徐々に増加している。これに続いてグルタミン 4 位、グルタミン酸 2 位、3 位が増加している。すなわち、脳内アミノ酸代謝をとらえており、3D 局所励起デカップル INEPT 法により *in vivo* 脳内代謝計測が可能であることが実証できた。

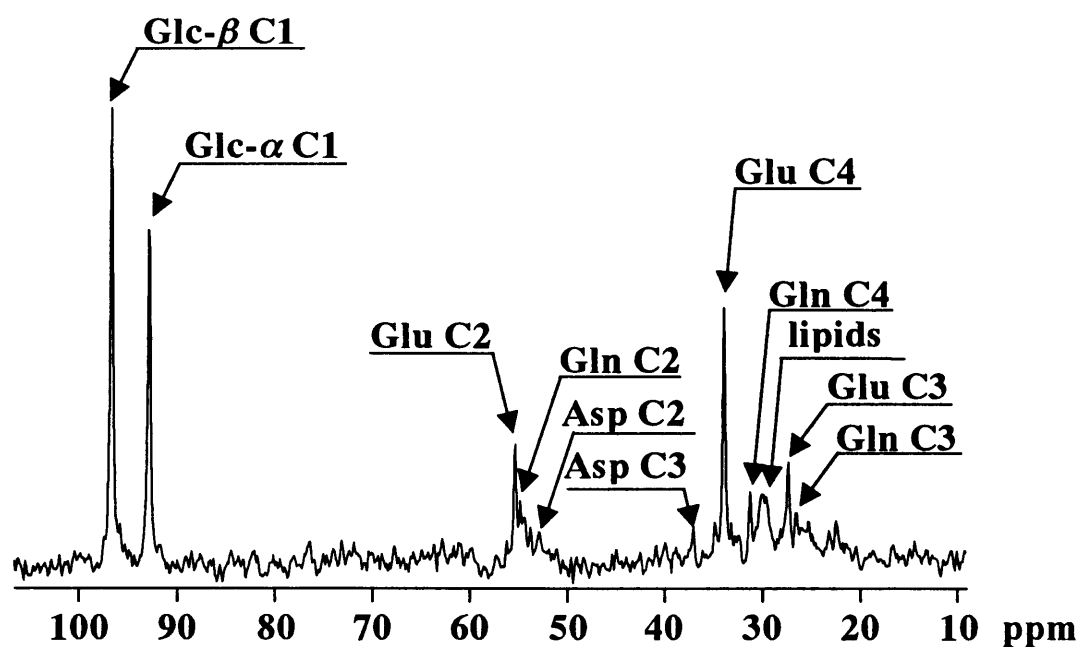


図 3-13 $[1-^{13}\text{C}]$ D グルコース投与後のサル脳局所励起 INEPT スペクトル。空間分解能は 32 ml で、投与後より 70 分間のスペクトルの積算より求めた。投与したグルコースおよび脳内で代謝されたグルタミン酸 (Glu)、グルタミン (Gln)、アスパラギン酸 (Asp) が検出されている。特に、化学シフト差が 0.5 ppm 程度の Glu C2 と Gln C2 が分離検出されている。

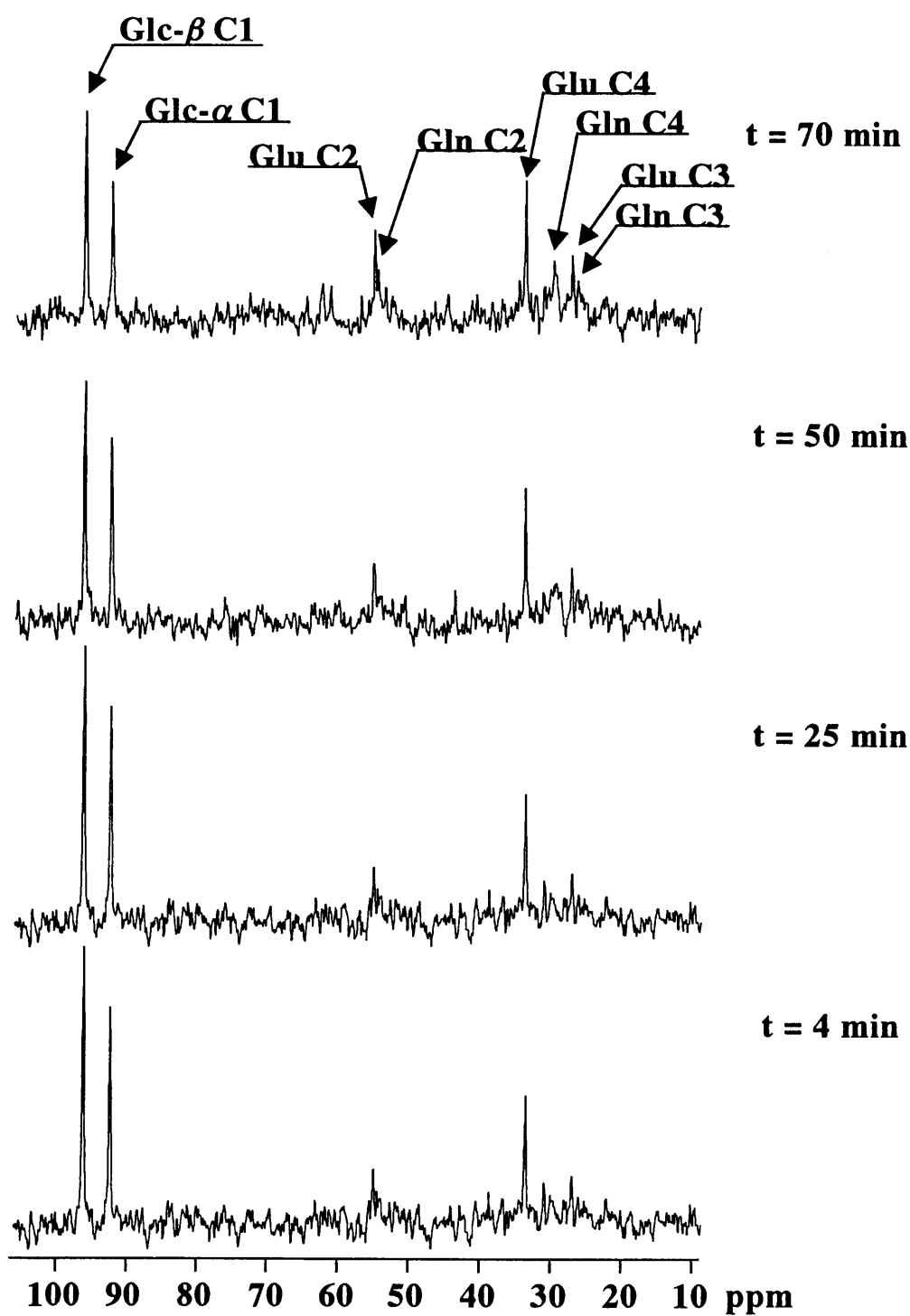


図 3 - 1 4 ^{13}C 標識グルコース投与後の局所励起 INEPT スペクトルの時間変化。
時間分解能は 10 分である。

3. 5 まとめ

本章では、第2章で ^{13}C 観測法のうちで最適な方法であることを論じた分極移動パルスシーケンスを *in vivo* に応用するための局所励起 INEPT シーケンスを提案した。本方法は、INEPT パルス列を構成する全ての ^1H パルスをスライス RF パルスとして用いることを可能とする方法である。INEPT パルス列の 180° (^1H , ^{13}C) パルスのそれぞれの役割を明確化し、これらを非同期に印加することで局所励起化を実現した。具体的には、 180° (^{13}C) パルスを第1番目の ^1H パルスより $1/(4J_{\text{CH}})$ 後、あるいは第3番目の ^1H パルスより $1/(4J_{\text{CH}})$ 前に印加することで、INEPT と同一の分極移動が実現でき、非同期印加が可能となる。本方法をファントム実験に適用し、この方法で局所励起が可能であり、所望の部位からの ^1H から ^{13}C への分極移動信号が取得できることを実証した。さらに、3D 局所励起デカップル INEPT シーケンスを用いて、1位標識グルコース投与後のサル脳内への ^{13}C の取りこみを計測した。この結果、グルコースからグルタミン酸あるいはグルタミンが合成される様子をとらえることができ、すなわち本方法を用いて脳内アミノ酸代謝計測が可能であることを実証した。以上より、局所励起 INEPT 法は、脳代謝計測の有用な方法であることが実証できた。

参考文献

- [3-1] H. Watanabe, Y. Ishihara, K. Okamoto, K. Oshio, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, "*In vivo* 3D localized ^{13}C spectroscopy using modified INEPT and DEPT", J. Magn. Reson., vol. 134, pp. 214-222, 1998.
- [3-2] H. Watanabe, M. Yoshikawa, Y. Ishihara, K. Okamoto, Y. Suzuki, M. Oda, K. Oshio, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, "3D localized ^{13}C spectroscopy by modified INEPT and DEPT", Proc. of 3rd Annual Meeting, Society of Magnetic Resonance, Nice, p. 1935, 1995.
- [3-3] W. P. Aue, S. Muller, and J. Seelig, Localized ^{13}C NMR spectra with enhanced sensitivity obtained by volume-selective excitation, J. Magn. Reson., vol. 61, pp. 392-395, 1985.
- [3-4] D. G. Norris, N. Schuff, and D. Leibfritz, INEPT-enhanced ^{13}C spectroscopy using double-tuned surface coils, J. Magn. Reson., vol. 78, pp. 362-366, 1988.
- [3-5] M. Saner, G. Mckinnon, M. Scheidegger, and P. Boesiger, Volume-selective carbon-13 spectroscopy by localized polarization transfer, Proc. of 9th Annual Meeting, Society of Magnetic Resonance in Medicine, p. 1068, 1990.
- [3-6] R. R. Ernst, G. Bodenhausen and A. Wokaun, "Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions," Oxford, Clarendon Press, 1987.
- [3-7] R. R. イリスト, G. ボーデンハウゼン, A. ウォーガン共著, 永山国昭, 藤原敏道, 内藤晶, 赤坂一之共訳, "イリスト 2 次元 NMR 原理と測定法", 京都, 吉岡書店, 1991.
- [3-8] C. Griesinger, H. Schwalbe, J. Schleucher and M. Sattler, in "Proton-Detected Heteronuclear and Multidimensional NMR" (W. R. Croasmun, R. M. K. Carlson, "Two-Dimensional NMR Spectroscopy, Application for Chemists and Biochemists, Second Edition"), pp. 457-580, New York, VCH Publishers Inc., 1994.
- [3-9] W. E. Hull, "Experimental Aspects of Two-Dimensional NMR", (W. R. Croasmun, R. M. K. Carlson, "Two-Dimensional NMR Spectroscopy, Application for Chemists and Biochemists, Second Edition"), pp. 67-456, New Yorik, VCH Publisershs Inc., 1994.
- [3-10] P. A. Bottomley, C. J. Hardy, P. B. Roemer and O. M. Mueller, "Proton-decoupled , Overhauser-enhanced, spatially localized carbon-13 spectroscopy in humans", Magn. Reson. Med., vol. 12, pp. 348-363, 1989.

- [3-11] A. J. Shaka, J. Keeler, T. Frenkiel and R. Freeman, "An improved sequence for broadband decoupling: WALTZ-16", J. Magn. Reson., vol. 52, pp. 335-338, 1983.
- [3-12] Y. Tsukada, T. Kanamatsu, H. Watanabe and K. Okamoto, "In vivo investigation of glutamate-glutamine metabolism in hyperammonemic monkey brain using ^{13}C -magnetic resonance spectroscopy", Dev. Neurosci., vol. 20, pp. 427-433, 1998.
- [3-13] K. L. Behar, O. A. C. Petroff, J. W. Prichard, J. A. Alger, R. G. Shulman, Detection of metabolites in rabbit brain by ^{13}C NMR spectroscopy following administration of $[1-^{13}\text{C}]$ glucose, Magn. Reson. Med., vol. 3, pp. 911-920, 1986.

第4章 局所励起 HSQC 法^{[4-1], [4-2]}

4. 1 序

第2章では、 ^1H 観測法のうちで異核種相関スペクトロスコピー法が代謝物のピーク分離の点で優れていることを示した。このうちで、グルタミン酸やグルタミン等の J_{HH} カップリングを有するスピン系に対しては HSQC シーケンス (図2-8) が最も優れており、*in vivo* 計測において最適であることを述べた。

この HSQC に対して ^{13}C MRS の観測対象であるグルタミン酸やグルタミンでは、分極移動の効率を最適にするため RF パルス間のディレイ $\Delta/2$ を約 1.9 ms に設定する必要がある (詳細は第4. 2. 1 節にて後述)。しかし、全身用 MRI 装置上でこの 1.9 ms のディレイ内に選択励起パルスや勾配磁場パルスを印加することは、RF パルス幅あるいは勾配磁場パルスの立ち上がり時間長から困難である。従って、全身用 MRI 装置である全身用 MRI 装置上で従来の HSQC を局所励起に応用することは困難であった。

本章では、この HSQC を局所励起タイプに応用した局所励起 HSQC シーケンスを提案する。本方法の性能をファントム実験にて実証する。さらに本方法を用いて標識グルコース投与後のサル脳アミノ酸代謝計測を実施し、*in vivo* での性能を実証する。

4. 2 局所励起 HSQC 法

4. 2. 1 HSQC シーケンスの局所化への応用

HSQC では、INEPT による ^1H から ^{13}C への分極移動を行い ^{13}C の 1 量子コヒーレンスを生成した後、 ^{13}C 化学シフトを展開し、続く逆分極移動パルス (90° (^{13}C) パルス、 90° (^1H) パルス) で ^1H に分極を移動して観測する。このうち、準備期の INEPT では図3-1 (b) で示した様に分極移動パルス^[4-3]である 90° (^1H) パルスと 90° (^{13}C) パルスとを非同期に印加することが可能である。これと同様に、逆分極移動パルス^[4-3]においても 90° (^{13}C) パルス後に縦 2 スピン秩序 ($2 I_z S_z$) が形成され、この状態を保持しておくことが可能であるため、こちらの 90° (^{13}C) パルスと 90° (^1H) パルスも非同期印加とすることが可能である (図4-1)。

従って、勾配磁場パルスと同時に印加することが可能な ^1H パルスは、準備期の 2 つの 90° (^1H) パルス、展開期の 180° (^1H) パルスおよび逆分極移動パルスである

90° (^1H) パルスとなる。このうちで、展開期の 180° (^1H) パルスは、 ^{13}C [^1H] 磁化ベクトルの J_{CH} 展開を再結像する役割を有している。すなわち、このパルスを勾配磁場パルスと同時に印加する場合、所望の領域内での ^{13}C [^1H] 磁化ベクトルの J_{CH} による展開は再結像する。これに対して、領域外の ^{13}C [^1H] 磁化ベクトルは J_{CH} により展開する。すなわち、再構成の結果得られる 2D ^1H - ^{13}C 相関スペクトル上に F_1 方向に J_{CH} で分裂した領域外からの二重線結合のピークが混入するのみであり、所望の領域内のみの信号を取り出すことはできない。従って、この 180° (^1H) パルスは領域選択パルスに用いることはできない。つまり、局所励起タイプの HSQC シーケンスとして、準備期の 2 つの 90° (^1H) パルスと逆分極移動パルスを構成する 90° (^1H) パルスを選択励起パルスとして用いる図 4-2 のパルスシーケンスが考えられる。但し、このパルスシーケンスでは、RF パルス数を最小にするために、 t_1 後に用いるパルス列として逆 INEPT の代わりに最も単純な逆分極移動パルス列 (90° (^{13}C) パルス、90° (^1H) パルス) を用いている。この理由は、RF パルス数の多さに起因するロバスト性の低下、すなわち RF パルスのフリップ角の誤差あるいは RF 不均一分布による HSQC 信号損を防ぐためである。

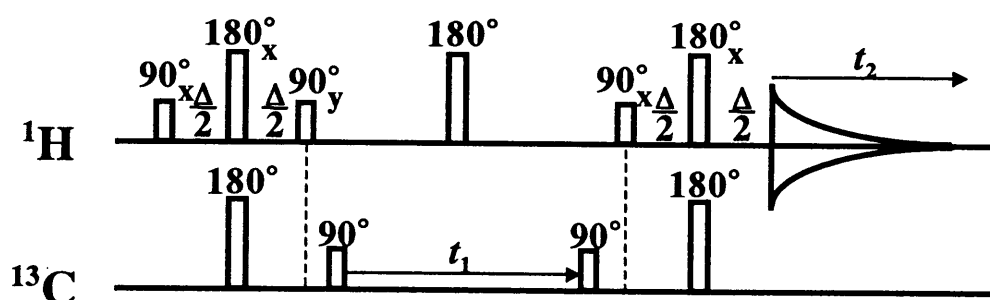


図 4-1 HSQC シーケンスの変形。このパルス列にすることによって準備期の 2 つの 90° (^1H) パルスとおよび逆分極移動パルスを構成する 90° (^1H) パルスを勾配磁場パルスと同時に印加する局所励起パルスに応用できる。

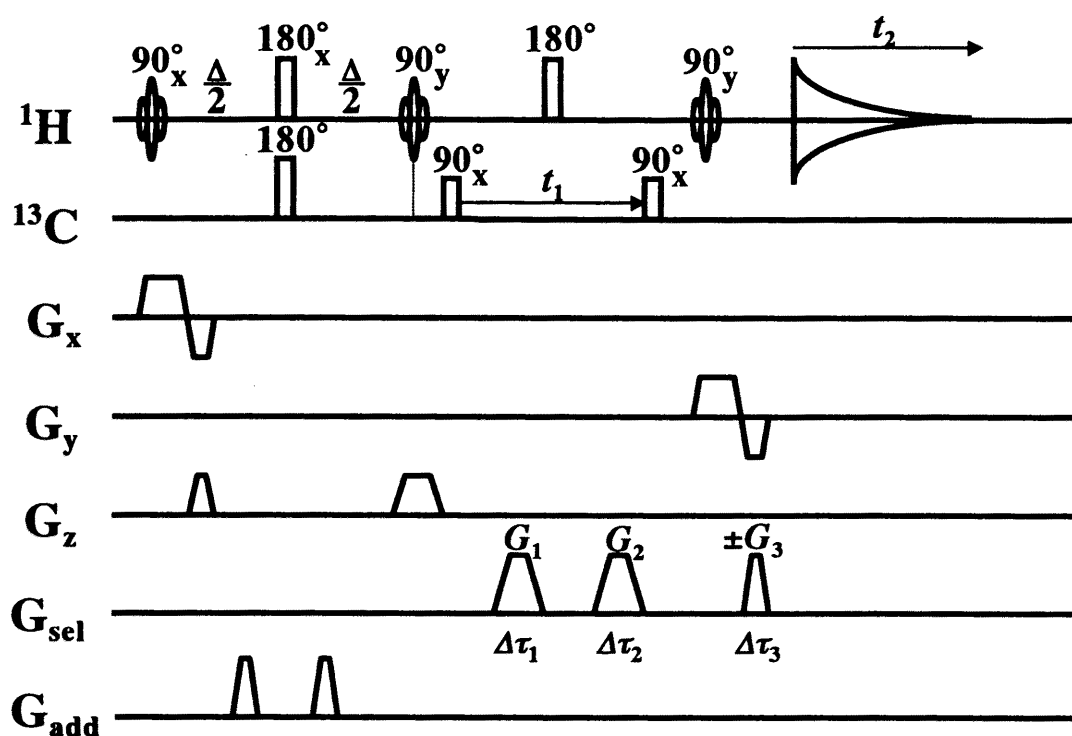


図4-2 従来の HSQC をベースとした 3D 局所励起 HSQC シーケンス。RF パルス数の最小化によるロバスト性の向上のため、 t_1 以降のパルス列を 90° (^{13}C) パルスと 90° (^1H) パルスの逆分極移動パルスのみで構成している。再結像パルス非印加の結果、2D スペクトルは絶対値表示としなければならない。RF パルス間のディレイ $\Delta/2$ は、全身用 MRI 装置では $1/(4J_{\text{CH}})$ よりも長く設定しなければならない。この結果、異なる J_{CH} の間での分極移動の効率の差が問題となる。

しかし、この局所励起シーケンスを全身用 MRI 装置上で実現する際には、選択励起パルスのパルス幅や勾配磁場パルスの立ち上がり時間より、ディレイ $\Delta/2$ を $1/(4J_{\text{CH}})$ よりも長く設定せざるを得ない。つまり、全身用 MRI 装置では RF コイルの耐圧制限による最大振幅制限等の要請があり、選択励起パルス幅を通常数 ms 程度に設定する必要がある。勾配磁場パルスに関しては、通常 1 ms 程度の立ち上がり時間である。従って、グルタミン酸 4 位の $J_{\text{CH}} = 130 \text{ Hz}$ に対する $1/(4J_{\text{CH}}) = 1.9 \text{ ms}$ に設定することは不可能である。一方、分極移動の効率は、 $\sin(\pi J_{\text{CH}} \Delta)$ で表せ^[4-4]、すなわち $\Delta/2 = (2n+1)/(4J_{\text{CH}})$ で効率は最大となる。従って、 $\Delta/2$ を $3/(4J_{\text{CH}})$ あるいは $5/(4J_{\text{CH}})$ に設定すれば効率良く分極移動を生成することができる。しかし、代謝物間そして代謝物内でも炭素位置によって J_{CH} は異なるため、問題が生ずる。例えば、グルタミン酸

3 位、4 位では $J_{CH} = 130$ Hz であるが、グルタミン酸 2 位では $J_{CH} = 150$ Hz、そしてグルコース 1 位では $J_{CH} = 160$ Hz である。このため全てのピークに対して分極移動の効率を最適化することはできず、長い $\Delta/2$ になる程それぞれの最適値からずれを生ずる（図 4-3）。例えば、 $\Delta/2 = 1.8$ ms の場合には、分極移動の効率はグルタミン酸 2 位、3 位、4 位に対しては 0.99 以上であり、グルコース 1 位に対しては 0.97 である。しかし、グルタミン酸 3 位、4 位の $3/(4J_{CH})$ に相当する $\Delta/2 = 5.8$ ms に対しては、グルタミン酸 2 位とグルコース 1 位の分極移動効率はそれぞれ 0.73 と 0.44 となる。 $\Delta/2 \approx 5/(4J_{CH})$ の場合にはさらに問題は深刻となり、全ての物質を効率良く検出することが不可能となる。

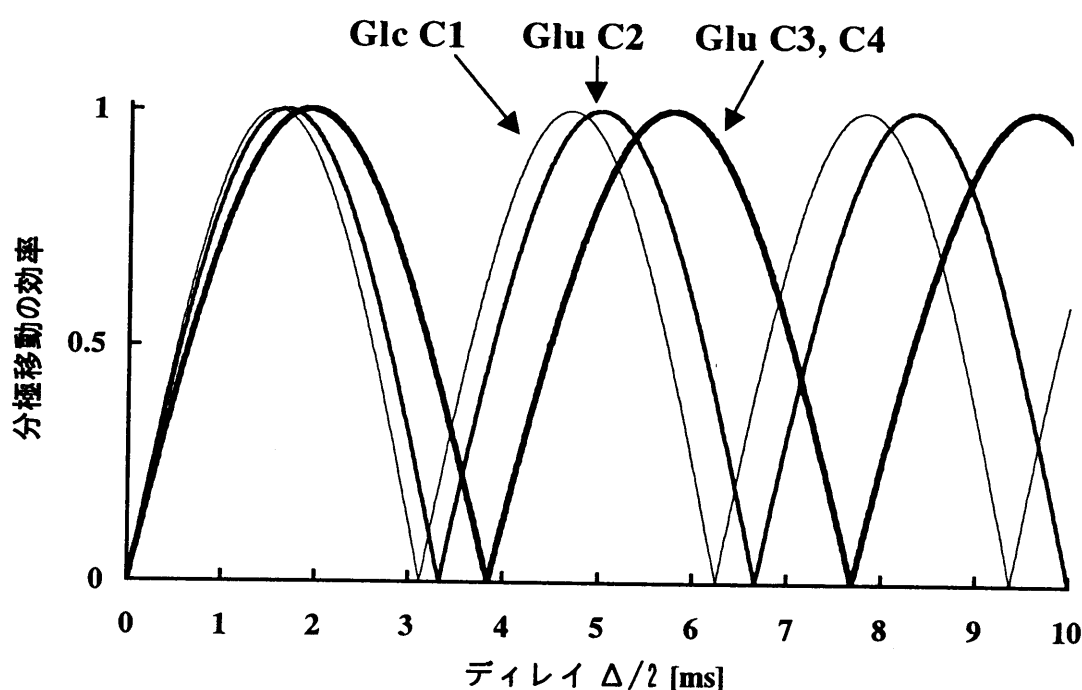


図 4-3 グルタミン酸 3 位、4 位 (Glu C3, C4, $J_{CH} = 130$ Hz)、グルタミン酸 2 位 (Glu C2, $J_{CH} = 150$ Hz) およびグルコース 1 位 (Glc C1, $J_{CH} = 160$ Hz) に対する INEPT の分極移動効率とディレイ $\Delta/2$ との関係（計算結果）。分極移動効率は $\sin(\pi J_{CH} \Delta)$ で表せる。 $\Delta/2 \approx 1/(4J_{CH})$ の場合には、3 種類全てに対して $\Delta/2 = 1.8$ ms で効率はほぼ最大となる。しかし、第 2、第 3 の効率最大、すなわち $3/(4J_{CH})$ あるいは $5/(4J_{CH})$ の近傍の $\Delta/2$ では、3 種類全てに対して効率を最大とすることはできない。

4. 2. 2 局所励起 HSQC シーケンスの原理

本章で提案する局所励起 HSQC シーケンスは、 $\Delta/2 = 1/(4J_{\text{CH}})$ による最適な分極移動を達成しながら、かつ全身用 MRI 装置上で空間 3D に対する選択励起パルスあるいは勾配磁場パルスを印加することが可能なシーケンスである (図 4-4)。この特徴は、準備期のパルス列に第 3 章で提案した修正 INEPT (図 3-2 (c)) を用い、2つの $90^\circ (^1\text{H})$ パルスを選択励起パルスとして用いた点にある。第 3. 2. 1 節で説明した様に、修正 INEPT では ^{13}C 反転パルスを ^1H 化学シフトが再結像する時刻 2τ よりも $1/(4J_{\text{CH}})$ 前、あるいは第 1 の ^1H パルスよりも $1/(4J_{\text{CH}})$ 後に印加することで最適な分極移動を生成することが可能である。この結果 $\text{TE} = 2\tau$ を $1/(2J_{\text{CH}})$ よりも長い任意の時間長に設定することが可能となり、準備期内に選択励起パルスや勾配磁場パルスを印加することが可能となる。

図 4-4 の局所励起 HSQC シーケンスでは、準備期の 2つの $90^\circ (^1\text{H})$ パルスをスライス勾配磁場パルスと同時に印加する選択励起パルスとして用いる。まず $90^\circ (^1\text{H})$ 選択励起パルスにより x 軸に垂直な面内のスピンを励起する。そして時間 τ 後に再結像 ^1H パルスを印加する。再結像パルスの前後に印加する G_{add} は所望のコヒーレンス、すなわち $90^\circ - \tau - 180^\circ - \tau$ の SE パルス列によって生成されるコヒーレンスのみを選択する勾配磁場パルスである。 $180^\circ (^1\text{H})$ パルスに続いて、時間 $2\tau - 1/(4J_{\text{CH}})$ 後に ^{13}C 反転パルスを印加し、 ^{13}C スピンを反転する。この結果、 2τ 後に上記 x 軸に垂直な面内で ^1H スピンと ^{13}C スピンが $-2I_x S_z$ を形成する。この演算子に対して z 軸に対する $90^\circ (^1\text{H})$ 選択励起パルスを印加して x 軸、 z 軸の空間 2 次元で決定される柱状領域内で縦 2 スピン秩序、 $2I_z S_z$ を生成する。そして、 z チャンネルのスライス勾配磁場パルスの印加終了後に $90^\circ (^{13}\text{C})$ パルスを印加することによって上記 2D で局所化された領域内で ^1H から ^{13}C への分極移動が生じる。この結果、展開期 (t_1) において ^{13}C の 1 量子コヒーレンス (δ_c, J_{cc}) が展開する。続いて $90^\circ (^{13}\text{C})$ パルスによる展開期終了後、 y 軸に対する $90^\circ (^1\text{H})$ 選択励起パルスを印加する。この結果、空間 3D で局所化された領域内での ^1H 感度の HSQC 信号が取得できる。図 4-2 に示したシーケンスと同様に、ロバスト性の向上のため RF パルス数を最小にすべく $90^\circ (^{13}\text{C})$ パルスと $90^\circ (^1\text{H})$ パルスで構成される逆分極移動パルスのみを用いている。この結果 t_2 にて ^1H 化学シフトは再結像しないため、絶対値モードのスペクトル表示が必要となる。一方、図 4-4 のパルスシーケンスでは t_2 の間の ^{13}C デカ

カップリングパルスは非印加としている。しかし、上記 y 軸に対する 90° (^1H) 選択励起パルス後にデータ収集開始までにディレイ $\Delta \approx 1/(2J_{\text{CH}})$ を設定することにより $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ をリフェーズすることができ、比吸収率 (specific absorption ratio (SAR)) 基準以下での ^{13}C デカップリングパルスの印加が可能となる。

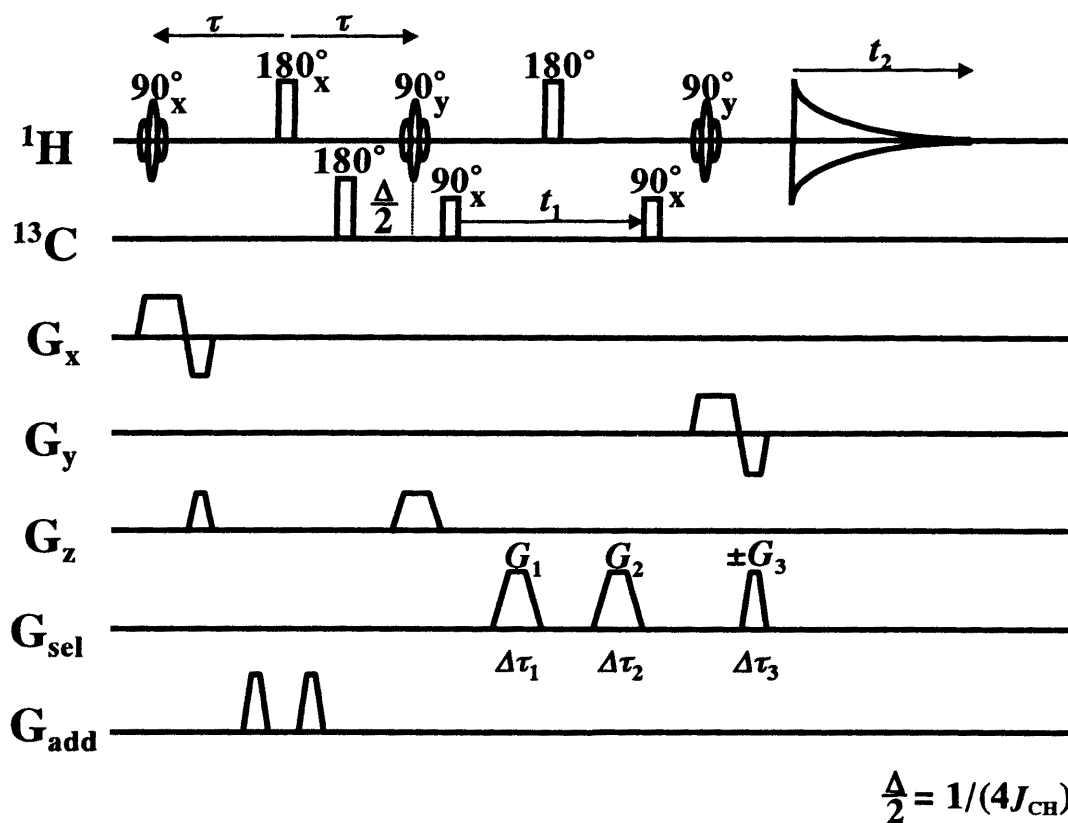


図 4-4 修正 INEPT を用いた局所励起 HSQC シーケンス。 ^1H 化学シフトが再結像する時刻 2τ よりも $1/(4J_{\text{CH}})$ 前、あるいは第 1 の ^1H パルスよりも $1/(4J_{\text{CH}})$ 後に ^{13}C 反転パルスを印加する。これにより最適な分極移動が生成できる。この結果、 $\tau > \Delta/2$ に設定可能であり、局所励起に必要な選択励起パルスや選択励起 RF パルスを全身用 MRI 装置上で印加することが可能となる。

4. 2. 3 コヒーレンス選択勾配磁場パルスを用いた水信号抑圧^[4-5]

MRS の対象である代謝物濃度は数 mM であるのに対して水分子は約 56 M である。従って水 ^1H の信号強度は代謝物 ^1H と比較して約 10^4 倍であり、 ^1H 観測法ではこの水信号の抑圧が重要な課題となる。この水信号抑圧法として ^1H MRS でよく用いられる方法は周波数選択パルスにより水信号の擬似飽和させる方法であり、chemical shift selective (CHESS^[4-6]) pulse と呼ばれている。しかし、この方法は水信号抑圧の性能が水の周波数分布すなわち磁場均一性に依存する。これに対して、図 4-4 の局所励起 HSQC シーケンスでは、勾配磁場パルスを用いたコヒーレンス選択法^[4-5]を用いて水信号抑圧を行う。

この方法は、コヒーレンス選択勾配磁場パルス (G_{sel}) を ^{13}C の 1 量子コヒーレンスである展開期と、逆分極移動後からデータ収集開始までの期間にそれぞれ印加する。すなわち、局所励起 HSQC シーケンスから G_{sel} と RF パルスのみを抽出したパルスシーケンス (図 4-5) に示す様に、展開期に G_1 、 G_2 を逆分極移動後に G_3 を印加する。この場合、以下の式が成り立つ様に設定すれば、図 4-5 に示したコヒーレンスを選択することができる。

$$p_c \gamma_c G_1 \Delta \tau_1 + p_c \gamma_c G_2 \Delta \tau_2 + p_H \gamma_H G_3 \Delta \tau_3 = 0 \quad [4-1]$$

但し、 p_c 、 p_H はコヒーレンスの次数を示し、 $\Delta \tau_i$ はそれぞれのパルスの印加時間を示している。信号検出のコヒーレンス次数 $p_H = -1$ および $p_c = \pm 1$ は、式 [4-1] より以下の式を満たす様に G_{sel} を設定することで選択できる。

$$G_1 \Delta \tau_1 + G_2 \Delta \tau_2 = \pm 4 G_3 \Delta \tau_3 \quad [4-2]$$

一方、 G_{sel} が横磁化に作用するのは第 3 番目の ^1H パルス以降であるから、水 ^1H に関しては第 3 番目の ^1H パルス以降の RF パルスで生成されるコヒーレンスを考慮すれば十分である (図 4-5)。従って、図 4-5 の位相ダイアグラムより 7 ケのコヒーレンスを考慮すれば良い。この結果、それぞれの G_{sel} によるモーメントは以下の様になる。

$$M_1 = +4G_1\Delta\tau_1 - 4G_2\Delta\tau_2 - 4G_3\Delta\tau_3 \quad [4-3]$$

$$M_2 = -4G_1\Delta\tau_1 - 4G_2\Delta\tau_2 - 4G_3\Delta\tau_3 \quad [4-4]$$

$$M_3 = +4G_1\Delta\tau_1 + 4G_2\Delta\tau_2 - 4G_3\Delta\tau_3 \quad [4-5]$$

$$M_4 = +4G_1\Delta\tau_1 - 4G_3\Delta\tau_3 \quad [4-6]$$

$$M_5 = +4G_2\Delta\tau_2 - 4G_3\Delta\tau_3 \quad [4-7]$$

$$M_6 = -4G_2\Delta\tau_2 - 4G_3\Delta\tau_3 \quad [4-8]$$

$$M_7 = -4G_3\Delta\tau_3 \quad [4-9]$$

従って、式 [4-2] を満たす様に G_{sel} を設定すれば、上式 7 ケのモーメントに対して $M_i \neq 0$ とすることができる。すなわち、水信号を除去し、所望のコヒーレンスのみを選択することが可能となる。

このコヒーレンス選択勾配磁場パルスを用いる水信号抑圧法では、式 [4-2] のうちで $G_1\Delta\tau_1 + G_2\Delta\tau_2 = 4G_3\Delta\tau_3$ を満たす様に設定すると、 $S^+ \rightarrow I^-$ のコヒーレンス径路 ($p_c = +1$ 、 $p_H = -1$) が選択される。これに対して $G_1\Delta\tau_1 + G_2\Delta\tau_2 = -4G_3\Delta\tau_3$ を満たす様に設定すると、 $S^- \rightarrow I^-$ のコヒーレンス径路 ($p_c = -1$ 、 $p_H = -1$) が選択される。つまり、2つのコヒーレンス径路のうちの1ケのみの選択に留まる。この結果、CHESS を用いて水信号を除去した場合の HSQC と比較して S/N は $1/\sqrt{2}$ 倍となる^{[4-3], [4-7]}。しかし、この方法は、コヒーレンスを用いて水信号を抑圧するため、磁場不均一性には依存せず、ロバストな方法である。さらに、CHESS 法では除去できない脂肪信号もディフェーズすることが可能である。

また、S/N 向上の観点では、コヒーレンス移動エコー^[4-8]を生成するコヒーレンス径路を選定することが重要となる。すなわち、 $S^- \rightarrow I^-$ の場合にはエコーは形成されずディフェーズするのに対して、 $S^+ \rightarrow I^-$ の場合には、 S^+ の期間に磁場不均一性でディフェーズした磁化が I^- の期間にリフェーズしコヒーレンス移動エコーが形成され、この結果 S/N が向上する。

次に検討しなければならない事は、3D 局所励起 HSQC シーケンス (図 4-4) への組み込みである。何故ならば、スライス勾配磁場パルス、クラッシャー勾配磁場パルス (G_{add}) およびコヒーレンス勾配磁場パルスの全てに関して水信号のモーメント $\neq 0$ とする必要があるからである。この組み込みのために、まず考慮すべき水信号のモーメント数を減じて簡素化する。具体的には、コヒーレンス選択勾配磁場パルス

G_{sel} を 2 ケで構成する。この場合、考慮すべきモーメントの数は 7 ケから 3 ケに減ずる。例えば、 $G_1 = 0$ の場合には、 M_5 、 M_6 、 M_7 のみを考慮すれば良い。従って、 $G_1 = 0$ あるいは $G_2 = 0$ とすることで、パルスシーケンス設計を簡素化することができる。しかし、このうちの $G_2 = 0$ では拡散の影響が t_1 に依存するのに対し、 $G_1 = 0$ では t_1 に依存しない様に設定することが可能である（第 4. 5. 3 節）。以上より、 $G_1 = 0$ の場合が適当であり、さらにコヒーレンス移動エコー生成を考慮することで、3D 局所励起 HSQC シーケンスには $G_1 \Delta \tau_1 : G_2 \Delta \tau_2 : G_3 \Delta \tau_3 = 0 : 4 : 1$ が適していると言える。

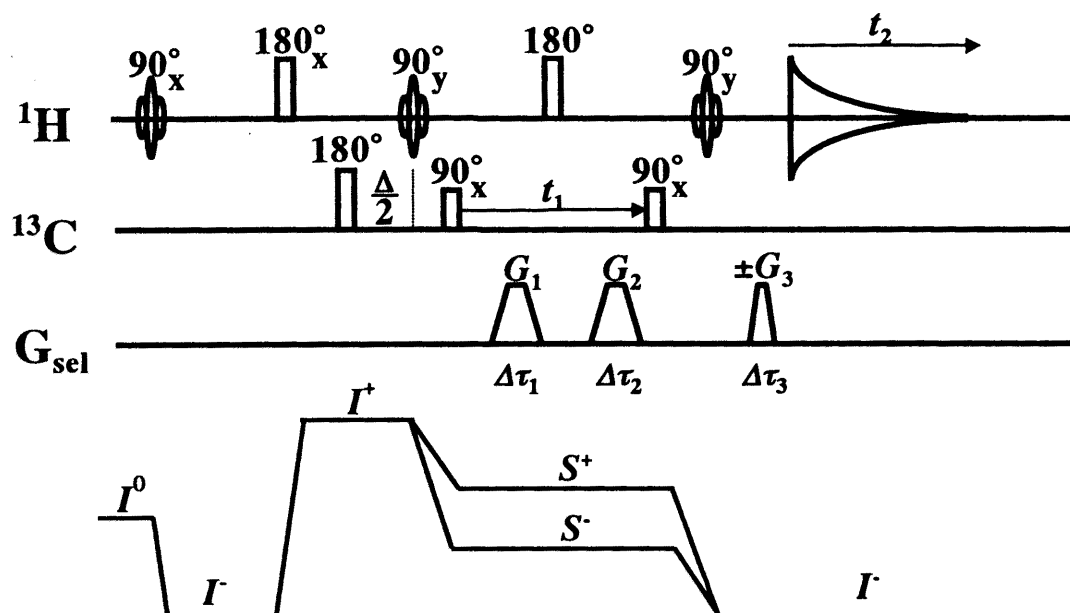


図 4-5 コヒーレンス選択勾配磁場パルスによる水信号除去。 S^+ 、 S^- の期間に G_1 、 G_2 を印加し、データ収集直前の I^- の期間に G_3 を印加する。コヒーレンス勾配磁場パルスを $G_1\Delta\tau_1 + G_2\Delta\tau_2 = \pm 4G_3\Delta\tau_3$ を満たす様に設定することで、 $S^+ \rightarrow I^-$ あるいは $S^- \rightarrow I^-$ のコヒーレンス径路を選択することができ、水信号を抑圧することができる。

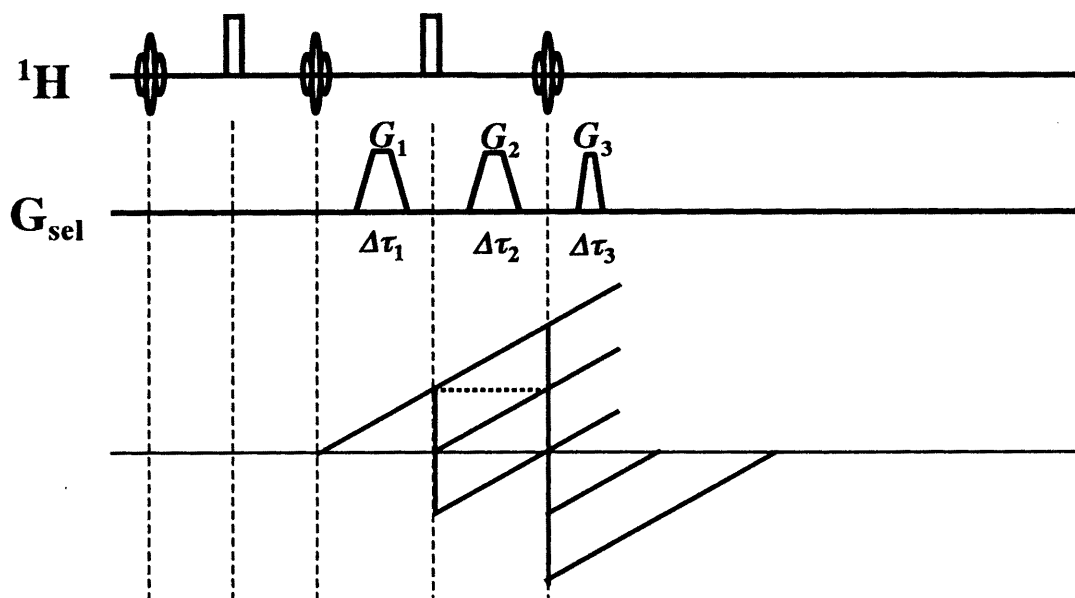


図 4-6 局所励起 HSQC シーケンスを構成する第 3 番目の ^1H パルス以降の ^1H パルス列により生成する位相ダイアグラム。7 種類の異なるコヒーレンス径路を通過した水信号を G_{sel} によってデフューズすることができる。

4. 3 ファントム実験による実証

4. 3. 1 方法

局所励起 HSQC シーケンスの性能を実証するために、 ^{13}C スペクトロスコピー研究用 2T 全身用 MRI 装置（東芝、日本）を用いてファントム実験を行った。ファントムには、直径 30 mm の 2 つの球ファントムを用い、一方にはエタノール（99.5%、和光純薬、日本）、もう一方には酢酸（99.7%、和光純薬、日本）を満たした。RF コイルには、それぞれ ^1H 共鳴周波数（85.1 MHz）と ^{13}C 共鳴周波数（21.4 MHz）に同調をとった 2 つの直交配置した鞍型コイル（ ^1H 用は $\phi 185$ mm、 ^{13}C 用は $\phi 140$ mm）を用いた。2 つのファントムを RF コイル内の x 軸上に配置して（図 4-7）磁石内に挿入し、非局所励起 HSQC シーケンスおよび局所励起 HSQC シーケンスを用いて 2 種類の 2D ^1H [^{13}C] 相関スペクトルを取得した。 x 軸方向の評価に続いて y 軸上、 z 軸上にそれぞれ配置し、実験を行った。

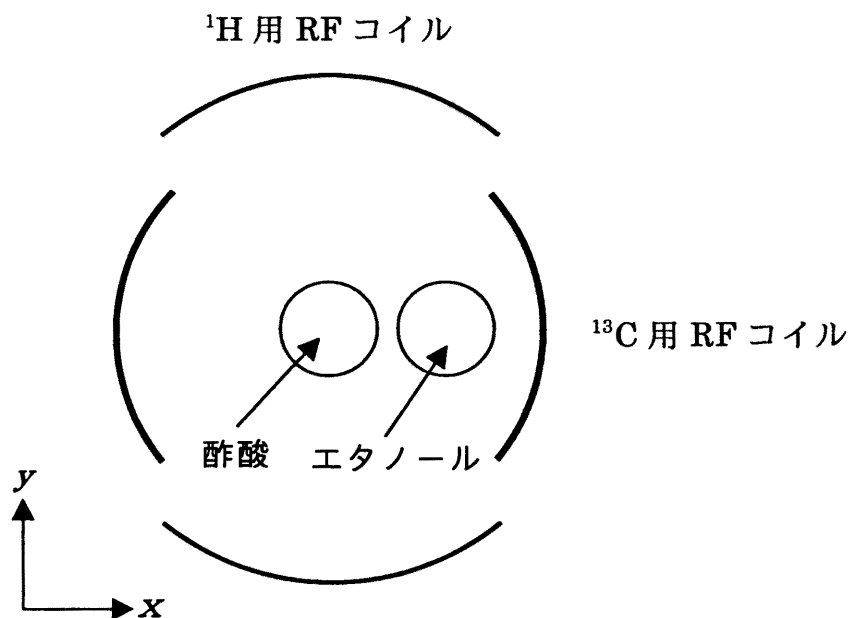


図 4-7 RF コイル内に 2 つの球ファントムを設置し、局所励起 HSQC シーケンスの性能を評価した。

局所領域は酢酸ファントム内に設定し、領域サイズは $20 \times 20 \times 20 \text{ mm}^3$ とした。スライス選択励起パルス、非選択励起パルスのいずれの ^1H パルスも $\pm 4\pi$ の sinc 関数パルスとし、パルス幅は 2 ms とした。 ^{13}C パルスは全て矩形波パルスで、パルス幅 $200 \mu\text{s}$ とした。 ^{13}C 反転パルスと第3番目の ^1H パルスとのディレイ $\Delta/2 = 1/(4J_{\text{CH}})$ は、 1.8 ms とした。準備期のエコー時間 $\text{TE} = 2\tau$ は 20 ms とした。 90° (^1H) 逆分極移動パルスとデータ収集開始までのディレイは、 3.6 ms とした。 TR は 1 s とした。 t_2 方向には直交位相検波により 128 の複素サンプリングを行い、 t_1 方向には 64 エンコードとした。 ^1H 、 ^{13}C の帯域は 2 kHz で、 t_1 、 t_2 方向のデータ収集時間はそれぞれ 32 ms と 64 ms とした。第4.2.3節で説明した勾配磁場パルスによるコヒーレンス選択と以下の4位相サイクリングを併用して水信号抑圧を行った。すなわち、第3番目の ^{13}C パルスの位相 (x 、 $-x$ 、 x 、 $-x$)、第5番目の ^1H パルスの位相 (y 、 y 、 $-y$ 、 $-y$)、受信位相 (x 、 $-x$ 、 $-x$ 、 x) である。コヒーレンス移動エコーを生成できる様にコヒーレンス選択勾配磁場パルスは $G_1\Delta\tau_1 : G_2\Delta\tau_2 : G_3\Delta\tau_3 = 2 : 2 : 1$ を満たす様に設定し、勾配磁場強度は全て 8.5 mT/m 、パルス長は $\Delta\tau_1 = \Delta\tau_2 = 5 \text{ ms}$ 、 $\Delta\tau_3 = 2.5 \text{ ms}$ とした。非局所励起、局所励起共に、データ収集後、 t_1 (^{13}C) 方向にはサインベル関数、 t_2 (^1H) 方向にはコサインベル関数の重みをかけた^[4-3]。次に t_1 方向にゼロ補填を行い、ポイント数を 128 ポイントとして 2D 複素フーリエ変換を施し絶対値モード表示のスペクトルを取得した。

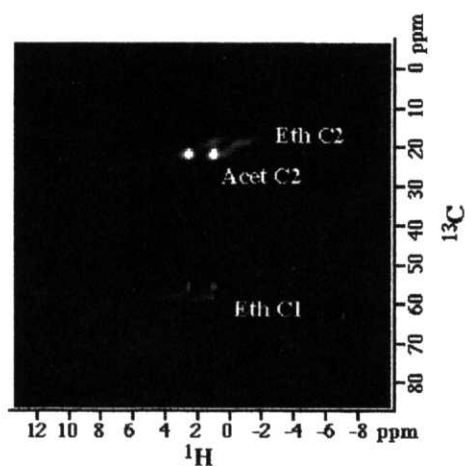
局所励起 HSQC シーケンスでは、局所励起 INEPT シーケンスと同様、 B_0 シフトによる磁化の位相回りが生ずる。この補正として、準備期の第3番目の ^1H パルス位相を調整した (第3.2.2節)。調整方法は局所励起 INEPT シーケンスの場合と同様であり、まず準備期の 90° (^1H) パルス- 180° (^1H) パルスの RF パルス列による水信号を収集し、位相を求めた。次に、上記 SE パルス列に局所励起 HSQC で用いる全ての勾配磁場パルスを追加したパルスシーケンスを印加し、2種類の水信号位相の差分より B_0 シフトによる位相回りを計測し、RF 位相を調整した。

4.3.2 結果

図4-8に非局所励起および局所励起を行った場合の 2D 絶対値スペクトルを示す。非局所励起 HSQC スペクトルでは、エタノールピーク (CH_2 、 CH_3) と酢酸ピーク (CH_3) とが検出された (図4-8 (a))。これに対して、局所励起 HSQC スペク

トルでは、酢酸ピークのみが検出された（図 4－8（b））。図 4－8（b）には、 x 軸の場合の結果を示しているが、 y 軸、 z 軸に関する実験でも同等の結果が得られ、局所励起できることが確認できた。従って、局所励起 HSQC シーケンスを用いて、空間 3D 局所領域内から ^1H － ^{13}C 相関スペクトルを取得できることが実証できた。

(a)



(b)

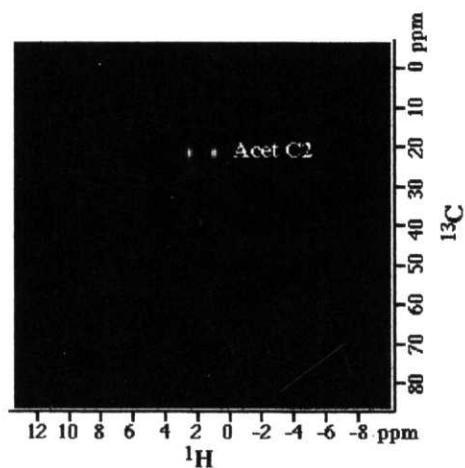


図 4－8 それぞれ酢酸とエタノールを注入した球で構成される 2 々のファントムの非局所励起 2D HSQC スペクトル (a) と局所励起 2D HSQC スペクトル (b)。非局所励起スペクトルでは、酢酸 (Acet C2) とエタノール (Eth C1 と Eth C2) が検出されているのに対し、局所励起スペクトルでは Acet C2 のみが観測されている。

4. 4 局所励起 HSQC 法を用いたサル脳アミノ酸代謝計測

4. 4. 1 方法

局所励起 HSQC 法の *in vivo* での性能を実証するために、サル脳アミノ酸代謝計測を ^{13}C スペクトロスコピー研究用 2T 全身用 MRI 装置（東芝、日本）を用いて実施した。RF コイルには送受信分離型コイルを用いた（図 4-9）。送信用には RF 不均一分布による信号損を小さくするために体積コイルを用い、それぞれ直交配置した ^1H 用と ^{13}C 用の鞍型コイル（両チャンネル共に直径 140 mm）を用いた。受信用には、高感度化のために ^1H 用サーフェスコイル（直径 60 mm）を用いた。

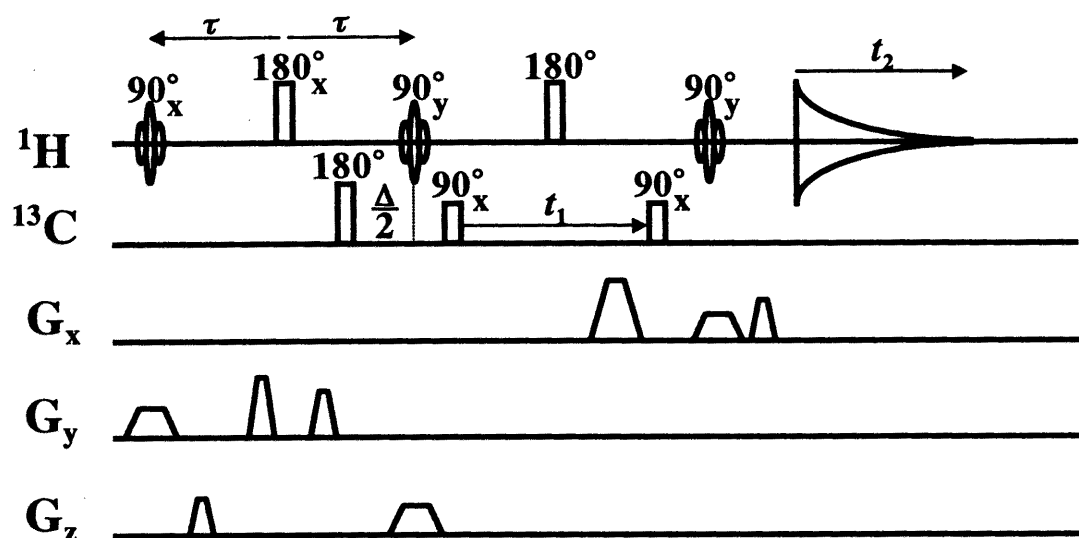
局所領域は、カニクイザル (*Macaca fascicularis*, female, 2.9 kg) の脳内 8 ml ($20 \times 20 \times 20 \text{ mm}^3$) とした。 ^1H パルスは全て $\pm 4\pi$ の sinc 関数パルスとし、パルス幅は 2 ms とした。 ^{13}C パルスは全て矩形波パルスとし、パルス幅は $400 \mu\text{s}$ とした。ディレイ $\Delta/2 = 1/(4J_{\text{CH}})$ は、1.8 ms とした。準備期の 2τ は 16 ms とし、 90° (^1H) 逆分極移動パルスとデータ収集開始までのディレイは 5.0 ms とした。TR は 1.2 s とした。全てのスペクトルに対して、 t_2 方向 (^1H 方向) にサンプリング数 256 の複素サンプリングを行い、 t_1 方向 (^{13}C 方向) のステップ数は 128 とした。 ^1H 方向、 ^{13}C 方向共に帯域は 2 kHz とし、 t_2 方向のデータ収集時間は 128 ms、スタートの t_1 値は 27 ms で 91 ms まで変化させた。ファントム実験にて用いた 4 位相サイクルを用い、1 スペクトルあたりの観測時間は 10 分とした。得られた時間領域 $S(t_1, t_2)$ データに対して、 t_1 (^{13}C) 領域に 256 までゼロ補填を実施した。窓関数は t_1 領域には使用せず、 t_2 (^1H) 領域には 7 Hz の指数関数のラインブロードニングを適用した。以上の後処理の後、複素 2D フーリエ変換を施し、絶対値スペクトルを得た。

コヒーレンス選択勾配磁場パルス G_{sel} は、コヒーレンス移動エコー生成が可能で勾配磁場パルスの設計が容易な $G_1 \Delta \tau_1 : G_2 \Delta \tau_2 : G_3 \Delta \tau_3 = 0 : 4 : 1$ の組合せとした（第 4. 2. 3 節）。勾配磁場強度は 8.5 mT/m、 $\Delta \tau_2 = 10 \text{ ms}$ 、 $\Delta \tau_3 = 2.5 \text{ ms}$ とした。 G_{sel} および G_{add} にはそれぞれ x チャンネルと y チャンネルを用い、スライス勾配磁場パルスを含めて水信号のモーメントが 0 にならない様に設定した（図 4-9）。

アミノ酸代謝計測のプロトコルは以下の通りとした。まずケタラルールおよびキシラジン麻酔下^[4,9]のサルの頭上に ^1H サーフェスコイルを設置し、 ^{13}C RF パワー調整のためのレファレンスファントムをサーフェスコイル上に設置した後、送信コイル内に挿入した（図 4-10）。レファレンスファントムには、1g の $[2-^{13}\text{C}]$ 酢酸（標

識率 99.3%、ISOTEC、USA) を注入した直径 10 mm の球ファントムを用いた。これに続き、送信コイルを磁石中心に設置し、85.1 MHz および 21.4 MHz に対して同調および整合条件を合わせた。この後、サル頭部の水 ^1H 画像を取得し、位置決めを行い、局所励起領域を決定した。続いて、3つの 90° 選択励起パルスから構成される 3D stimulated echo mode (STEAM)シーケンス^[4-10]によって得られる局所領域内の水信号を用いて、 T_2^* 最大となる様に磁場均一性調整を行った。この結果、7.7 Hz の線幅、すなわち $T_2^* \sim 41$ ms を達成した。これに続いて RF パワー調整を行った。局所励起 HSQC シーケンスは5つの ^1H パルスと3つの ^{13}C パルスで構成されるため、フリップ角の設定誤差に敏感で、信号損につながる。そこで、 ^1H RF パワーは、Curr-Pursell (CPMG) 条件である $90^\circ_x - 180^\circ_y - 180^\circ_y$ よりもフリップ角の誤差に敏感なシーケンス、すなわち同位相を有する 3D point-resolved spectroscopy (PRESS) シーケンス^[4-11]を用いて行った。すなわち 90°_x (x-slice) - 180°_x (y-slice) - 180°_x (z-slice) によって得られる局所領域内の水信号が最大となる様に調整した。 ^{13}C RF パワーは、パルス数の多い INEPT (3つの ^1H パルスと2つの ^{13}C パルス) を用いて行い、サーフェスコイル上に設置したレファレンスファントムの INEPT 信号が最大となる様に調整した。これらの RF パワー調整の後、レファレンスファントムを取り除き、第 4. 3. 1 節にて説明した RF 位相調整 ($\Delta\theta$) を実施した。

上記調整の後、スライス勾配磁場パルスを除いた非局所励起 HSQC シーケンスを用いて信号を収集した。これに続いて、 $[1-^{13}\text{C}]$ D グルコース (標識率 99%、1 g/kg 体重、ISOTEC、USA) を静脈注射によりサルに投与した。この直後より局所励起 HSQC 信号の収集を開始した。それぞれのスペクトルの観測時間は 10 分であり、静注後 130 分まで測定を実施した。



$$\frac{A}{2} = 1/(4J_{\text{CH}})$$

図4-9 空間 3D 局所励起 HSQC シーケンス。 G_x 、 G_y 、 G_z のそれぞれに対し、スライス勾配磁場パルス、コヒーレンス選択勾配磁場パルス (G_{sel} 、 G_{add}) による水 ^1H 信号のモーメントが 0 とならない様に設計する必要がある。

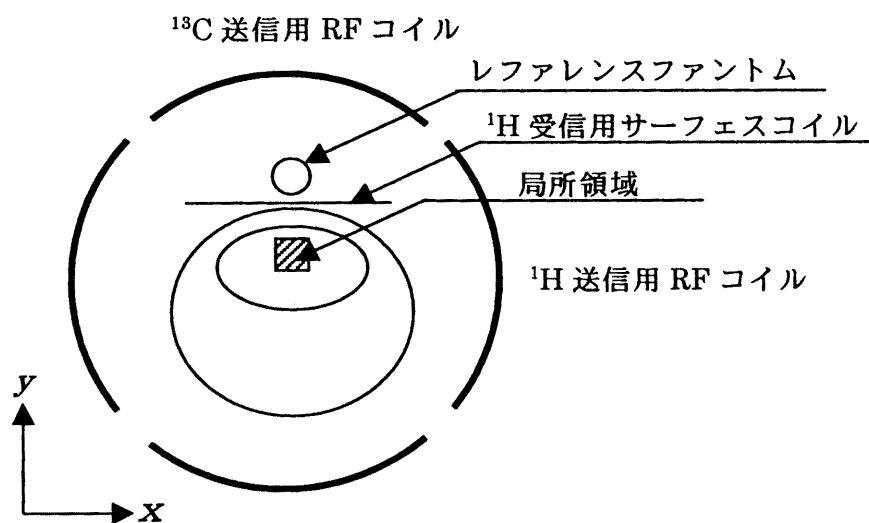


図4-10 送信用体積コイルと受信用サーフェスコイルの設置図。サーフェスコイルはサル頭部上方に設定した。

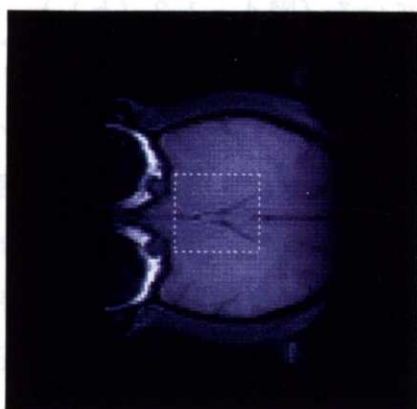
4. 4. 2 結果

位置決めに用いたサル頭部のスピンエコー画像（アキシャル断面）および局所領域位置を示す脳の 3D 局所励起画像をそれぞれ図 4-11 (a)、(b) に示す。局所励起 HSQC スペクトルは上記 3D 局所励起領域内（図 4-11 (b)）から信号を収集した。図 4-12 には、標識グルコース投与前の非局所励起 HSQC スペクトルと投与直後より 110 分間の積算に相当する局所励起 HSQC スペクトルを示している。非局所励起 HSQC スペクトル（図 4-12 (a)）では、頭皮脂肪からの天然存在 $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ ピークが検出されている。これに対して脳内の 3D 局所励起 HSQC スペクトルでは脂肪ピークは消失している（図 4-12 (b)）。そして、この脳内局所励起スペクトルでは、 ^1H 化学シフト軸上では十分に分離することができない各種アミノ酸、すなわちグルタミン酸 2 位、3 位、4 位、グルタミン 4 位、アスパラギン酸 3 位が、 ^{13}C 化学シフト情報を持たせた 2D スペクトル上で明瞭に分離検出されている。グルコース- α 1 位と β 1 位は、 δ_{H} が水 ^1H ($\delta_{\text{H}} \sim 4.7$ ppm) に近接しているため、*in vivo* では CHESS による水信号抑圧では検出困難であるが、これに対して 3D 局所励起スペクトルでは明瞭に検出されている。すなわち、勾配磁場パルスを用いたコヒーレンス選択による水信号抑圧が *in vivo* において有効であることがわかる。図 4-13 には様々な代謝物およびグルコースのピークの ^{13}C 化学シフトで横断した F_2 方向のプロフィール、すなわち F_2 クロスセクションを示している。これはそれぞれの物質の ^1H スペクトルに相当する。図 4-14 には、 J_{CH} 二重線ピーク的一方に対応する ^1H 化学シフトで縦断した F_1 クロスセクション、すなわち ^{13}C スペクトルを示している。図 4-15 には、標識グルコース投与後の時系列スペクトルを示しているが、上記のピークは時間分解能 10 分のスペクトルにおいても分離検出されている。この時系列スペクトルでは、まず投与したグルコース 1 位と脳内で合成されたグルタミン酸 4 位が検出され、続いてグルコース 1 位が減少しグルタミン酸 4 位が 60 分近辺まで上昇している。この後、グルタミン 4 位が検出できている（図 4-15、図 4-16）。さらに、TCA 回路の 2 週目に合成されるグルタミン酸 2 位、3 位も検出できた。従って、局所励起 HSQC 法を用いることによって *in vivo* の脳アミノ酸代謝をとらえることができることが実証できた。

得られたスペクトルにおいて、グルタミン酸 2 位の J_{CH} 二重線ピーク的一方を除き様々な代謝物およびグルコースのピークの検出に対して、水信号抑圧の程度は十分で

あった。展開期に J_{HH} による展開が生じない HSQC の特徴により、コヒーレンス勾配磁場パルスのパルス長 $\Delta\tau_2$ を 10 ms に設定することが可能であった。この結果、勾配磁場強度が臨床 MRI 装置と同程度である 8.5 mT/m であったにもかかわらず、上記の様に水信号抑圧を十分行うことができた。つまり、局所励起 HSQC 法は ^{13}C チャンネルを追加することによって通常の臨床 MRI 装置上で動作することが可能であると言える。

(a)



(b)



図 4-11 サル頭部 SE 画像 (5 mm スライス厚) (a) と局所励起 STEAM 画像 (b)。局所励起 HSQC スペクトルは、(b) に示す領域から取得した。

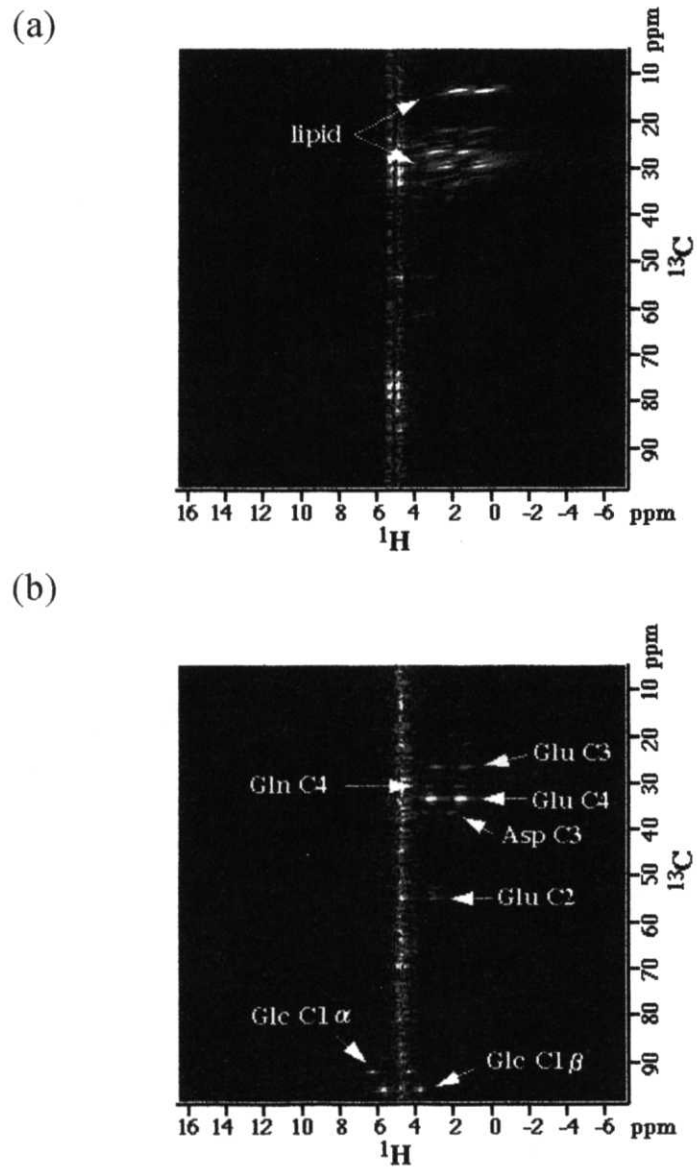


図 4-12 サル頭部の非局所励起 2D ^1H - ^{13}C HSQC スペクトル (a) と脳内局所励起スペクトル (b)。標識グルコース投与前に取得した非局所励起スペクトルでは $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 脂肪ピークが検出されている。投与後 110 分間積算の局所励起スペクトルでは、脂肪信号は除かれ、グルコース (Glc C1 α 、Glc C1 β)、Glu C2、Glu C3、Glu C4、Gln C4 および Asp C3 が検出されている。

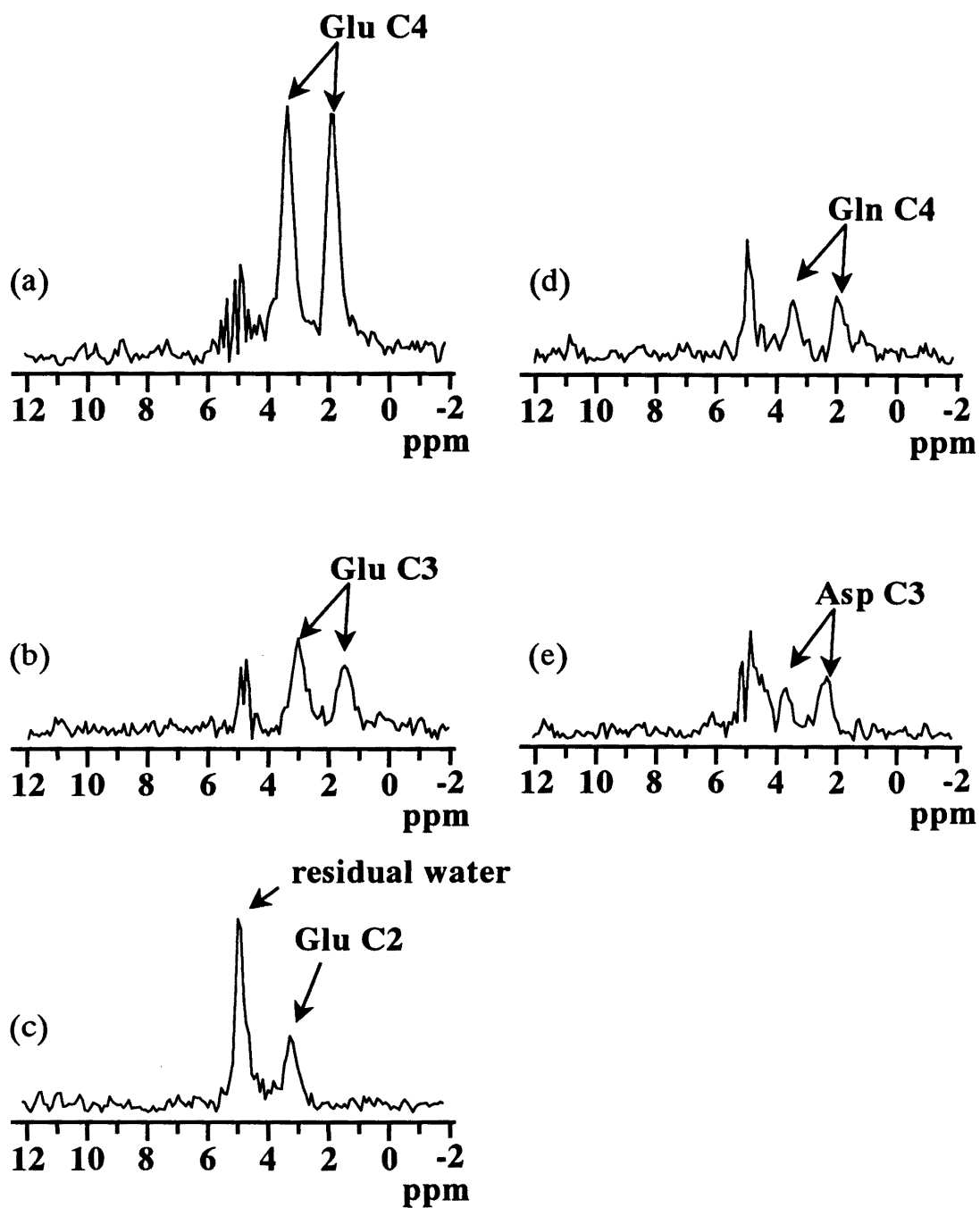


図4-13 各々のピークの F_2 クロスセクション。それぞれグルタミン酸4位 (a)、3位 (b)、2位 (c)、グルタミン4位 (d)、アスパラギン酸3位 (e) を示す。グルタミン酸2位の2重線の一方は残留水信号と重なっている。

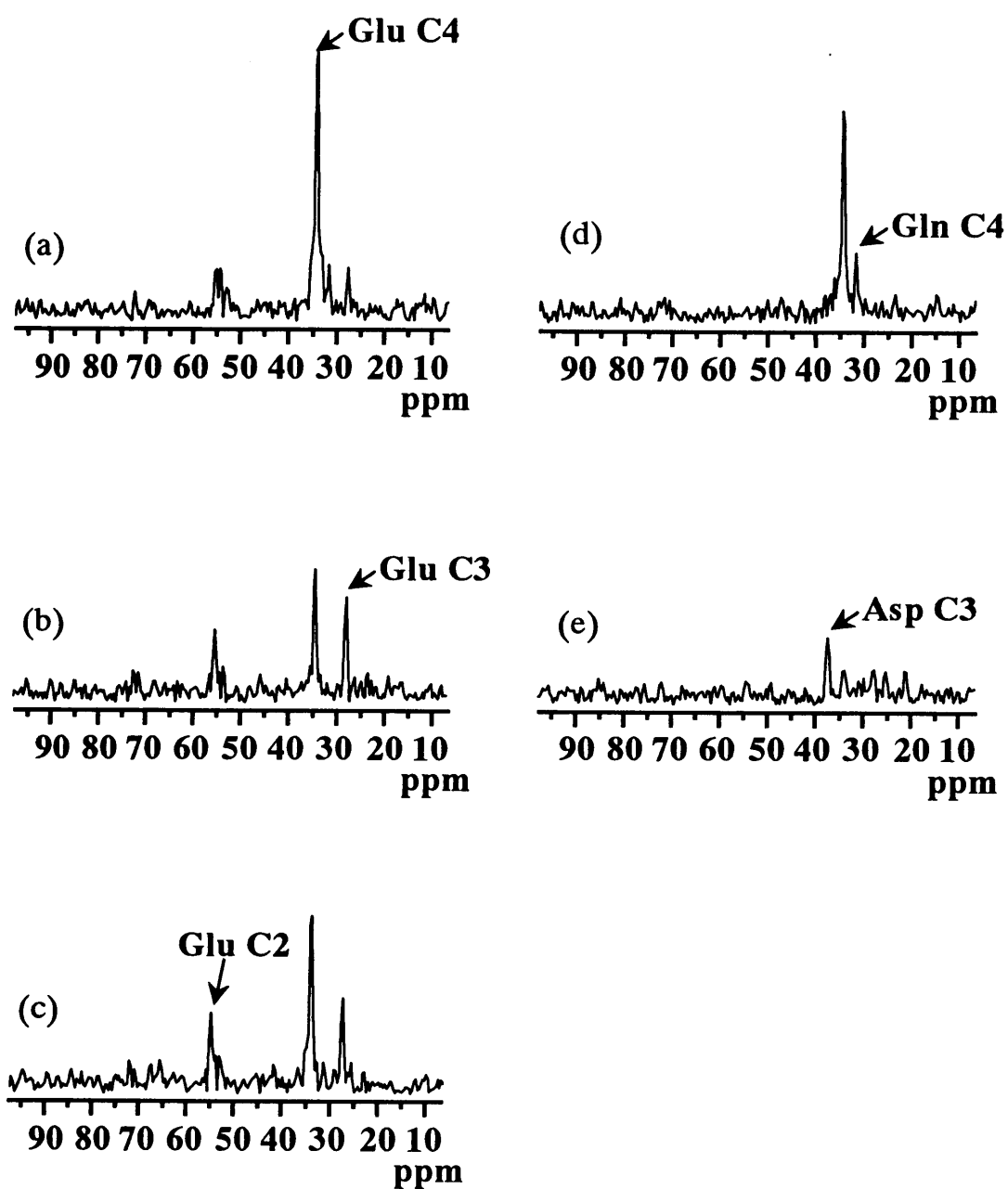


図4-14 各々のピークの F_1 クロスセクション。それぞれグルタミン酸4位 (a)、3位 (b)、2位 (c)、グルタミン4位 (d)、アスパラギン酸3位 (e) を示す。

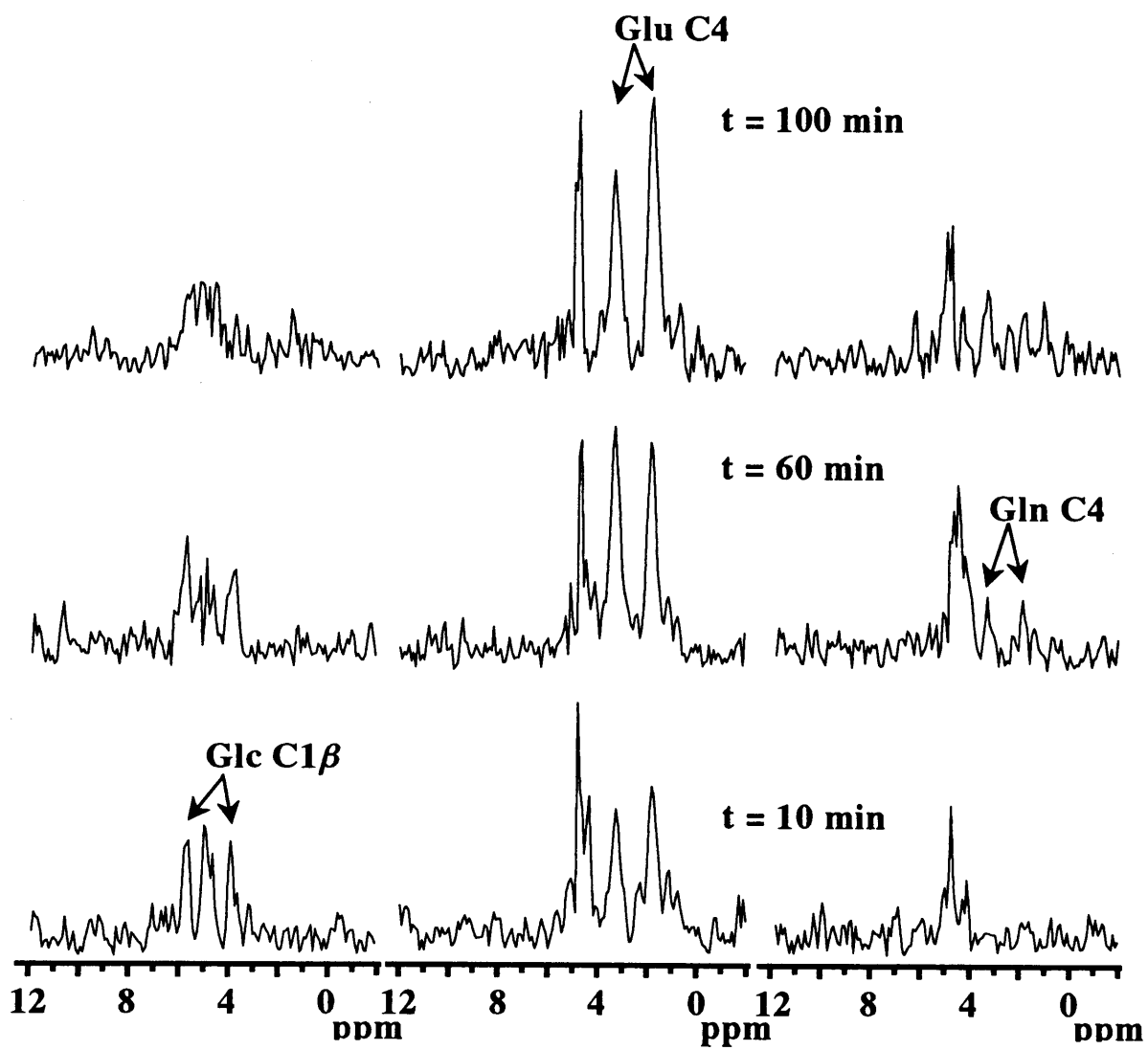


図 4 - 1 5 ^{13}C 標識グルコース投与後の Glc C1 β , Glu C4, Gln C4 に対する F_2 クロスセクションの時間変化。時間分解能は 10 分。

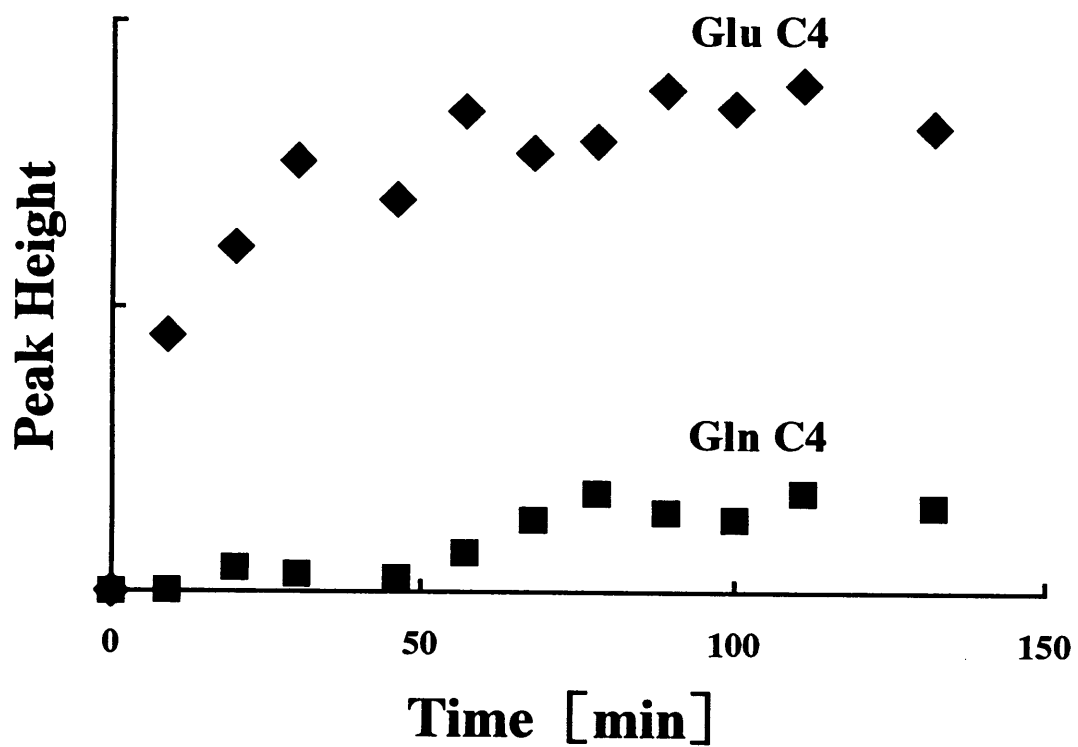


図4-16 Glu C4 (◆) と Gln C4 (■) の信号強度の時間変化。Glu C4、Gln C4 への ^{13}C の取りこみの時間変化を示す。

4. 5 考察

本章では ^1H [^{13}C] *in vivo* スペクトロスコピーに有用な 3D 局所励起 HSQC シーケンスを提案し、臨床 MRI 装置と同程度の勾配磁場系の仕様で ^1H 感度で、かつ ^{13}C 化学シフトを介した代謝物分離能を有する空間 3D 局所領域のスペクトルが取得できることを実証した。以下の節では、主に高感度化の観点から、 J カップリング、 $T_1(^1\text{H})$ 緩和、水信号抑圧、RF パルスおよびスライスパルスの影響に関して局所励起 HSQC 法を論ずる。

4. 5. 1 J カップリング

準備期の 2τ の期間では ^1H [^{13}C] 二重線磁化ベクトルが J_{CH} カップリングと J_{HH} カップリングの両方で展開する。 δ_{H} に関しては中央の 180° (^1H) パルスにより再結像する。準備期終了時での最適な分極移動には、ディレイ Δ は $\Delta/2 = 1/(4J_{\text{CH}})$ を満たす様に設定することが重要であり、グルコースおよびグルタミン酸やグルタミンに対しては、 $\Delta/2 = 1.8 \text{ ms}$ が最適である (第 4. 2. 1 節)。局所励起 HSQC シーケンスでは、選択励起 RF パルスや勾配磁場パルスの印加が可能な様に 2τ は Δ よりも長く設定することができる。しかしこの期間に J_{HH} 展開によるデフェーズが生じ、これは信号減衰につながり、この程度は $\cos(2\pi J_{\text{HH}}\tau)$ で近似することができる。特に、強い結合、すなわち $\delta_{\text{H}} \approx J_{\text{HH}}$ のスピン系を有するグルタミン酸やグルタミンではこの信号減衰は問題である [4-12], [4-13]。従って、 $\Delta = 1/(2J_{\text{CH}}) < 2\tau \ll 1/(2J_{\text{HH}})$ を満たす様に、かつ 2τ はできるだけ短く設定することが重要である。サル脳内アミノ酸代謝計測では、8.5 mT/m の勾配磁場強度のため $2\tau = 20 \text{ ms}$ とする必要があった。この結果、グルタミン酸やグルタミンに相当する $|J_{\text{HH}}| = 5 - 15 \text{ Hz}$ [4-13] に対して信号値は 0.95 倍 - 0.59 倍となる。従って、勾配磁場強度をより強くし、立ち上がり時間をより速くすることが高感度化につながる。

展開期では ^{13}C [^1H] 反位相磁化ベクトルが δ_{C} 、 J_{CH} 、 J_{CC} で展開する。このうち J_{CH} 展開は t_1 の中央で印加する 180° (^1H) パルスにより再結像し、この結果 J_{CH} は F_1 軸方向には現れない。 J_{CC} は 3 位、4 位が 2 重標識したグルタミン酸 ([3, 4 - ^{13}C] Glu) に存在するが、これは $J_{\text{CC}} \sim 35 \text{ Hz}$ 程度であり十分に検出可能である。

展開期に続く逆分極移動後の期間は、再び ^1H [^{13}C] 2 重線磁化ベクトルが δ_{H} 、 J_{CH} 、 J_{HH} で展開する。逆分極移動後のディレイを $\Delta = 1/(2J_{\text{CH}})$ に設定して SAR 基準以下で

^{13}C デカップリングパルスを印加することで S/N を向上させることができる。あるいは、 ^{13}C デカップリングパルスが非印加の場合でも、 J_{CH} による二重線を含むモデル式でカーブフィッティングを施すことで定量精度を向上させることができる。

4. 5. 2 緩和

局所励起 HSQC シーケンスにおける緩和は以下の通りである。すなわち、 2τ の期間は $1/T_2(^1\text{H})$ 、 t_1 の期間は $1/(2T_1(^1\text{H})) + 1/T_2(^{13}\text{C})$ ^[4-7]、 t_2 の期間は $1/T_2(^1\text{H})$ である。 2τ 、 t_1 の最小時間および RF パルスから t_2 開始までの時間長を短縮することで、これらの緩和の影響を小さくすることができ、感度向上につながる。この時間短縮の一つには勾配磁場系を強化することで実現できる。

一方、TR 間の信号回復は $T_1(^1\text{H})$ で決定される。このため、 $90^\circ (^1\text{H})$ パルスで始まる HSQC シーケンスでは $\text{TR} \sim 1.25T_1(^1\text{H})$ の時に S/N が最大となる ^[4-3]。

他の重要な TR の決定要因は、代謝計測に必要な時間分解能である。特に、局所励起 HSQC シーケンスの場合は、2D スペクトルを取得する必要があるため、データ収集の最小単位は t_1 領域の数と位相サイクル数の積で決定される。第3節で述べた動物実験では 128 t_1 ステップと 4 位相サイクルで設定し、512 のデータ収集が必要であった。アミノ酸代謝計測として 10 分程度の時間分解能が必要であり、 $\text{TR} = 1.2 \text{ s}$ と設定した。その他、定量性の観点から代謝物毎に緩和時間や J_{HH} カップリングの影響が異なることを考慮しなければならない。

4. 5. 3 コヒーレンス選択勾配磁場パルスを用いた水信号抑圧

コヒーレンス選択勾配磁場パルスを用いる水信号抑圧は、磁場不均一性に依存しないため、ロバストな方法である。しかし、S/N 低下の原因として、拡散による信号の減衰 ^[4-5] と、2つのコヒーレンス径路のうち一方しか選択できないことが挙げられる。特に後者では $1/\sqrt{2}$ 倍の S/N となる ^{[4-3], [4-7]}。

このうち拡散に関しては、拡散の影響が t_1 に依存しない様にコヒーレンス勾配磁場パルスの組み合わせを設定する必要がある ^[4-5]、特に勾配磁場パルスの強度の設定に関して注意する必要がある。動物実験では、この勾配磁場パルスの組み合わせを $G_1\Delta\tau_1 : G_2\Delta\tau_2 : G_3\Delta\tau_3 = 0 : 4 : 1$ とし、 G_2 と G_3 との時間間隔が t_1 に依存せずに一定でかつできるだけ短く設定した。勾配磁場強度に関しては、第4. 5. 1 節

の通り強化が時間短縮にすなわち感度向上につながるものの、一方で拡散による信号減衰は勾配磁場強度 G の 2 乗に依存するため勾配磁場パルスの強度の時間積分に相当するデフューズ能力を上げ過ぎないようにしなければならない。この理由から、動物実験では勾配磁場強度を 8.5 mT/m、 G_2 の印加時間を 10 ms とし、位相サイクルを併用した水信号抑圧を実施した。

この結果得られたサル脳内 2D スペクトル (図 4-11) では、変動する残留の水信号由来の t_1 雑音^{[4-14], [4-15]}が見られる。しかし、天然存在の ^{13}C が 2 mM の濃度に相当するグルタミン酸ファントムの 2D スペクトルでは、同じ強度、印加時間長のコヒーレンス選択勾配磁場パルスを用いて位相サイクルを併用した結果、ほぼ完全な水信号が除去可能であった。従って、*in vivo* で見られる t_1 雑音の原因はハードウェア不安定性ではなくて *in vivo* 固有な現象、すなわち動き、血流あるいは脳脊髄液 (cerebrospinal fluid (CSF)) である。但し得られた 2D スペクトルでグルタミン酸 2 位の二重線の一方が残留水信号から分離不可である以外には問題がない。従ってこの t_1 雑音をさらに抑圧する必要度は低い。しかし、ナビゲータエコーによる動きの影響に応じた信号の選択、血流信号あるいは CSF に対する飽和 RF パルスを利用することで、 t_1 雑音をさらに低減できるであろう。

次に、コヒーレンス選択勾配磁場パルスを用いる方法のもう一つの問題である感度の低下について論ずる。これに対しては、CHESS パルスの様な RF パルスを用いて水信号を抑圧し、位相サイクルでコヒーレンスを選択して $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 信号のみを選択する方法を用いることで、理論的には $\sqrt{2}$ 倍の S/N とすることができる^{[4-3], [4-7]}。しかし、水信号抑圧性能が磁場不均一性、あるいは磁場安定性等のシステム安定性に依存するという問題が生ずる。さらに、水信号に近い δ_{H} を有するグルコース 1 位は *in vivo* では検出できない。また、水信号のみを周波数選択するため、スライス特性、すなわち RF の周波数特性に起因する所望の領域外からの $^1\text{H}[^{12}\text{C}]$ 脂肪信号の混入が生じ、 $F_2 \sim 1.3$ ppm に新たな t_1 雑音を生じる可能性がある。

4.5.4 RF パルスの誤差

局所励起 HSQC 法は、RF パルス数の多さからフリップ角誤差および RF 不均一分布に敏感である。このシーケンスの RF パルス列は $90^\circ (^1\text{H})$ パルスを α 、 $90^\circ (^{13}\text{C})$ を β と記すと以下の様に表せる。

$$\begin{array}{rcl}
{}^1\text{H} & \alpha - 2\alpha - \alpha - 2\alpha - \alpha & \\
{}^{13}\text{C} & 2\beta & \beta - - \beta
\end{array}$$

90° 励起パルスに対してはフリップ角 θ に対してパルスの効率 $\sin \theta$ で表せる。一方、180° 反転パルスに対しては $(1 - \cos \theta)/2 = \sin^2(\theta/2)$ で表せる^[4-16]。これらを用いかつ直積演算子で展開すると、上記 HSQC シーケンスで得られる信号強度 S は以下の式で表せる。

$$S = \sin^7 \alpha \sin^4 \beta \quad [4-10]$$

式 [4-10] より ${}^1\text{H}$ 、 ${}^{13}\text{C}$ 、そして両方のパルスの 10% のフリップ角の誤差によって、信号強度がそれぞれ 0.92 倍、0.95 倍、0.87 倍となる。従って、精度のよい RF パワー調整と局所領域内の B_1 分布の均一性が要求される。このうちの RF パワー調整に関しては、動物実験では、RF パルスを多く含みフリップ角誤差に敏感なシーケンスを用いて ${}^1\text{H}$ 、 ${}^{13}\text{C}$ のそれぞれの RF パワーを調整した。すなわち、 ${}^1\text{H}$ に関しては $90^\circ_x - 180^\circ_x - 180^\circ_x$ のパルス列を、 ${}^{13}\text{C}$ に関しては INEPT パルス列を用いた。 B_1 分布に関しては、できるだけ B_1 均一性を確保するため、 ${}^1\text{H}$ 用、 ${}^{13}\text{C}$ 用共に送信専用の体積コイルを用いた。

4. 5. 5 スライス選択パルスの選定

局所励起 HSQC シーケンスでは、準備期の2つの 90° (^1H) パルスと1つの 180° (^1H) パルスと、逆分極移動パルスである1つの 90° (^1H) パルスをスライス選択パルスとして用いることができる。このうちの3つの 90° パルスを用いて空間 3D 局所励起を行った。この主な理由は、抑圧すべき水信号強度を小さくするためである。すなわち、この RF パルス設定によって、データ収集期に混入する可能性のある主な水信号は、逆分極移動用 90° (^1H) パルスで選択されるスライス面内由来、あるいは展開期に印加する 180° (^1H) パルスの不完全性由来の信号とすることができる。この結果、水信号抑圧のためのコヒーレンス選択勾配磁場パルス強度を小さくすることが可能となる。さらに、 90° パルスでは 180° パルスよりもより矩形に近い周波数特性を得られるという長所があるため、3つの 90° (^1H) パルスをスライス選択パルスとして用いている。

4. 6 まとめ

本章では、 ^1H 観測法のうちで最適な方法であり、*in vivo* 計測に最適な HSQC の全身用 MRI 装置上での実現に関して論じた。従来の HSQC では、最適な分極移動実現のために、グルタミン酸等の代謝物に対して準備期の $\tau = \Delta/2$ を 1.8 ms に設定する必要がある。しかし、全身用 MRI 装置上で、この時間長内に局所励起に必要なスライス RF パルスやスライス勾配磁場パルスを印加することはできない。本章で提案した修正 INEPT を利用した局所励起 HSQC 法は、分極移動効率を最適に保ちながら、すなわち $\Delta/2 = 1.8$ ms に設定しながら、スライス RF パルスやスライス勾配磁場パルスの印加が可能となる方法である。本方法は *in vivo* 脳代謝計測にとって重要な幾つの特徴を有している。すなわち、 ^1H 感度での高感度観測が可能であり、コヒーレンス選択勾配磁場パルスを用いた水信号抑圧により安定した空間 3D 局所励起が可能である。そして ^{13}C 化学シフトを利用した良好な代謝物ピーク分離が可能である。ファントム実験および動物実験により、本方法がこれらの特徴を有することを実証した。従って、本方法は *in vivo* $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ スペクトロスコピーにとって有用な方法となり得ると結論できる。

参考文献

- [4-1] H. Watanabe, Y. Ishihara, K. Okamoto, K. Oshio, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, "3D localized ^1H - ^{13}C heteronuclear single-quantum coherence correlation spectroscopy *in vivo*", *Magn. Reson. Med.*, vol. 43, pp. 200-210, 2000.
- [4-2] H. Watanabe, M. Yoshikawa, Y. Ishihara, K. Okamoto, M. Oda, K. Oshio, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, Spatially "3D localized HSQC by using modified INEPT", *Proc. of International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 4th Annual Meeting, New York, p.1220, 1996.
- [4-3] W. E. Hull, "Experimental Aspects of Two-Dimensional NMR", (W. R. Croasmun, R. M. K. Carlson, "Two-Dimensional NMR Spectroscopy, Application for Chemists and Biochemists, Second Edition"), pp. 67-456, New York, VCH Publisherhs Inc., 1994.
- [4-4] D. P. Burum and R. R. Ernst, Net polarization transfer via J -ordered state for signal enhancement of low-sensitivity nuclei, *J. Magn. Reson.*, vol. 39, pp. 163-168, 1980.
- [4-5] J. Ruiz-Cabello, G. W. Vuister, C. T. W. Moonen, P. van Gelderen, J. S. Cohen and P. C. M. van Zijl, "Gradient-enhanced heteronuclear correlation spectroscopy. theory and experimental aspects", *J. Magn. Reson.*, vol. 100, pp. 282-302, 1992.
- [4-6] A. Haase, J. Frahm, W. Hanicke and D. Matthei, " ^1H NMR chemical shift selective (CHESS) imaging", *Phys. Med. Biol.*, vol. 30, pp. 341-344, 1985.
- [4-7] C. Griesinger, H. Schwalbe, J. Schleucher and M. Sattler, in "Proton-Detected Heteronuclear and Multidimensional NMR" (W. R. Croasmun, R. M. K. Carlson, "Two-Dimensional NMR Spectroscopy, Application for Chemists and Biochemists, Second Edition"), pp. 457-580, New York, VCH Publishers Inc., 1994.
- [4-8] A. A. Maudsley, A. Wokaun and R. R. Ernst, "Coherence transfer echoes", *Chem. Phys. Letters*, vol. 55, pp.9-14, 1978.
- [4-9] Y. Tsukada, T. Kanamatsu, H. Watanabe, K. Okamoto, "In vivo investigation of glutamate-glutamine metabolism in hyperammonemic monkey brain using ^{13}C -magnetic resonance spectroscopy", *Dev. Neurosci.*, vol. 20, pp. 427-433, 1998.

- [4-11] P. A. Bottomley, "Spatial localization in NMR spectroscopy *in vivo*", Ann. N. Y. Acad. Sci., vol. 508, pp. 333-348, 1987.
- [4-12] T. Ernst and J. Hennig, "Coupling effects in volume selective ^1H spectroscopy of major brain metabolites", Magn. Reson. Med., vol. 21, 82-96, 1991.
- [4-13] V. Govindaraju, V. J. Basus, G. B. Matson, A. A. Maudsley, "Measurement of chemical shifts and coupling constants for glutamate and glutamine", Magn. Reson. Med., vol. 39, pp. 1011-1013, 1998.
- [4-14] R. R. Ernst, G. Bodenhausen and A. Wokaun, "Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions," Oxford, Clarendon Press, 1987.
- [4-15] R. R. エルスト, G. ボーデンハウゼン, A. ウォーガン共著, 永山国昭, 藤原敏道, 内藤晶, 赤坂一之共訳, "エルスト 2 次元 NMR 原理と測定法", 京都, 吉岡書店, 1991.
- [4-16] M. R. Bendall, *in* "Surface Coil Technology", In: C. L. Partain, R. R. Price, J. A. Patton, M. V. Kulkarni, A. E. James Jr., editors, "Magnetic Resonance Imaging, Second Edition, Volume II", Philadelphia, Saunders, 1988, p. 1205.

第5章 マルチスライス HSQC 法^{[5-1], [5-2], [5-3]}

5.1 序

第4章では ^1H 観測法としてグルタミン酸やグルタミンの検出に最適である HSQC 法を応用した局所励起 HSQC 法を提案し、*in vivo* での有用性について述べた。本章では、この方法をさらに発展させ、複数の部位からの信号取得、すなわち $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 磁気共鳴スペクトロスコピックイメージング (magnetic resonance spectroscopic imaging (MRSI)) を可能とするマルチスライス HSQC 法^[5-1] を提案する。

本章で示す ^{13}C 標識試薬を用いた $^1\text{H} [^{13}\text{C}]$ MRSI は、代謝の動的観測を目的としており、限られた時間内での観測が要求される。例えば、脳における主な観測対象であるアミノ酸代謝では、 ^{13}C がグルコースからグルタミン酸に取り込まれて定常状態に達するまでに1時間程度を要する^{[5-4] ~ [5-6]}。従って、投与してから1時間以内に複数のスペクトルを取得する必要がある。しかし、2D $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HSQC スペクトルの取得には、 t_1 領域のマトリクス数と位相サイクル数の積で決まる回数のデータ収集が必要である。このため、エンコード勾配磁場パルスを印加してデータ収集する従来の化学シフトイメージング (chemical shift imaging (CSI)) はスキャン時間が増加するため適用できない。例えば、空間 2D で 8×8 のエンコードを実施する場合、2 位相サイクル、 t_1 領域数 = 128 とすると、 $8 \times 8 \times 128 \times 2 = 16384$ 回の信号を収集する必要があり、 $\text{TR} = 1.2 \text{ s}$ とすると約 330 分の観測時間となってしまう。

本章で提案するマルチスライス HSQC 法は、展開期後に生成された縦 2 スピン秩序 ($2I_zS_z$) に対してマルチスライス技術を適用する方法である。この方法によって、スキャン時間を増加すること無く、マルチスライス方向に複数の部位からの $^1\text{H} [^{13}\text{C}]$ 信号の取得が可能となる。以下の節ではこの方法の原理を説明し、ファントム実験にて性能を実証する。さらに、本方法を用いて ^{13}C 標識グルコース経口投与後の人ボランティア試験を実施し、15 分の時間分解能、36 ml の空間分解能で脳内 4 領域からの 2D $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HSQC スペクトルを取得することに成功したので報告する。さらに、この方法の定量性についておよび経口投与方法について論ずる。

5. 2 マルチスライス HSQC 法の原理

マルチスライス HSQC シーケンスを図 5-1 (a) に示す。このシーケンスの展開期までは第 4 章で提案した局所励起 HSQC シーケンスと同じである。すなわち、修正 INEPT シーケンス (第 3. 2. 1 節) の 2 つの $90^\circ (^1\text{H})$ パルスを選択励起パルスとして用い、 x 、 y の空間 2D で局所化された z 軸に平行な柱状の領域内で ^1H から ^{13}C に分極移動を生起する。これに続く展開期で ^{13}C [^1H] 磁化が δ_c と J_{cc} で展開する。この後、 $90^\circ (^{13}\text{C})$ パルスを印加することにより展開期が終了し、図 5-1 (a) に示す時刻 t_a にて δ_c と J_{cc} による展開で振幅変調を受けた縦 2 スピン秩序 $2I_z S_z$ が上記空間 2D で局所化された領域内で生成する。この直積演算子が示す状態は、 ^1H 磁化、 ^{13}C 磁化共に縦磁化であり、オブザーバブルな磁化はなく、かつ緩和速度も遅い状態である [5-4], [5-5]。従って、イメージングで用いられているマルチスライス技術が応用できる。このマルチスライス技術は、同一 TR 内に複数のスライス面内のスピンを励起しそれぞれのデータを収集する技術であり、図 5-1 にはこの技術を z 軸方向に適用したマルチスライス HSQC シーケンスを示している。このシーケンスを用いることで、2 つの領域すなわち 2 ボクセルからの 2D ^1H - ^{13}C HSQC スペクトルの取得が可能となる。

この取得のため、 $90^\circ (^{13}\text{C})$ パルス印加により上記 δ_c と J_{cc} の情報が付与された $2I_z S_z$ を生成した後にはまず $90^\circ (^1\text{H})$ 選択励起パルス 90°_{slz1} により z 軸に垂直なスライス面 slz_1 内のスピンを励起する (図 5-1 (b))。この結果、準備期での x 軸方向、 y 軸方向と逆分極移動パルスの z 軸方向の空間 3D 局所領域 V_1 内で、 δ_c と J_{cc} の情報が付与された ^1H [^{13}C] 磁化が生成し、 $t_{2,1}$ 期にて信号が収集される (図 5-2)。一方、 V_1 の外側でかつ x 、 y の 2D 局所領域内部では上記 $2I_z S_z$ は状態が保持されている。上記 V_1 内の ^1H [^{13}C] 磁化をディフェーズ後、この状態に対して z 軸方向に垂直な第 2 のスライス面 slz_2 内のスピンを励起する $90^\circ (^1\text{H})$ 選択励起パルス 90°_{slz2} を印加する。この結果、第 2 番目のボクセル V_2 内で δ_c と J_{cc} の情報が付与された ^1H [^{13}C] 磁化が生成し、 $t_{2,2}$ 期にて信号が収集される (図 5-2)。さらに、 t_1 期の時間長を変化させて、それぞれの t_1 に対応した $t_{2,1}$ 期、 $t_{2,2}$ 期の 2 つの信号を取得することで、2 組のデータセット $S(t_1, t_{2,1})$ と $S(t_1, t_{2,2})$ が取得できる。それぞれに対して 2D フーリエ変換を施すことにより空間 3D の局所領域 V_1 、 V_2 の 2D ^1H - ^{13}C HSQC スペクトルを ^1H 感度で取得することができる。従って、本方法を用いることによって、

第4章で提案した単一ボクセルからスペクトルを取得する局所励起 HSQC 法と同一のスキャン時間でマルチスライス方向に複数のボクセルからの 2D $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ 相関スペクトルを取得することができる。また、縦2スピン秩序の緩和による信号減衰が許す限り、取得できるボクセル数を増やすことが可能である。さらに、図5-3 (a)に示す様に空間 1D エンコード勾配磁場パルスを印加して空間エンコード毎の信号を収集することができる。このデータに対して空間 1D と 2D スペクトルの 3D フーリエ変換を施すことにより、空間 2D の $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ MRSI を取得することが可能となる。

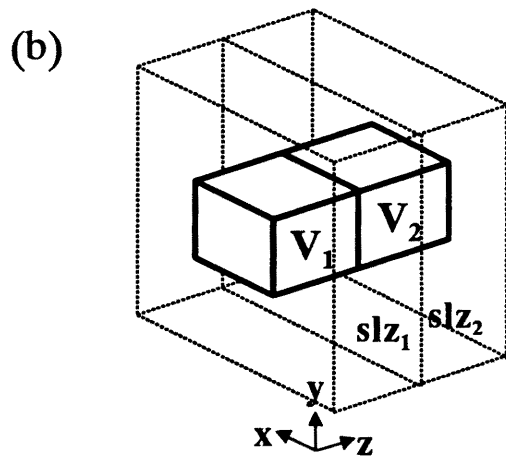
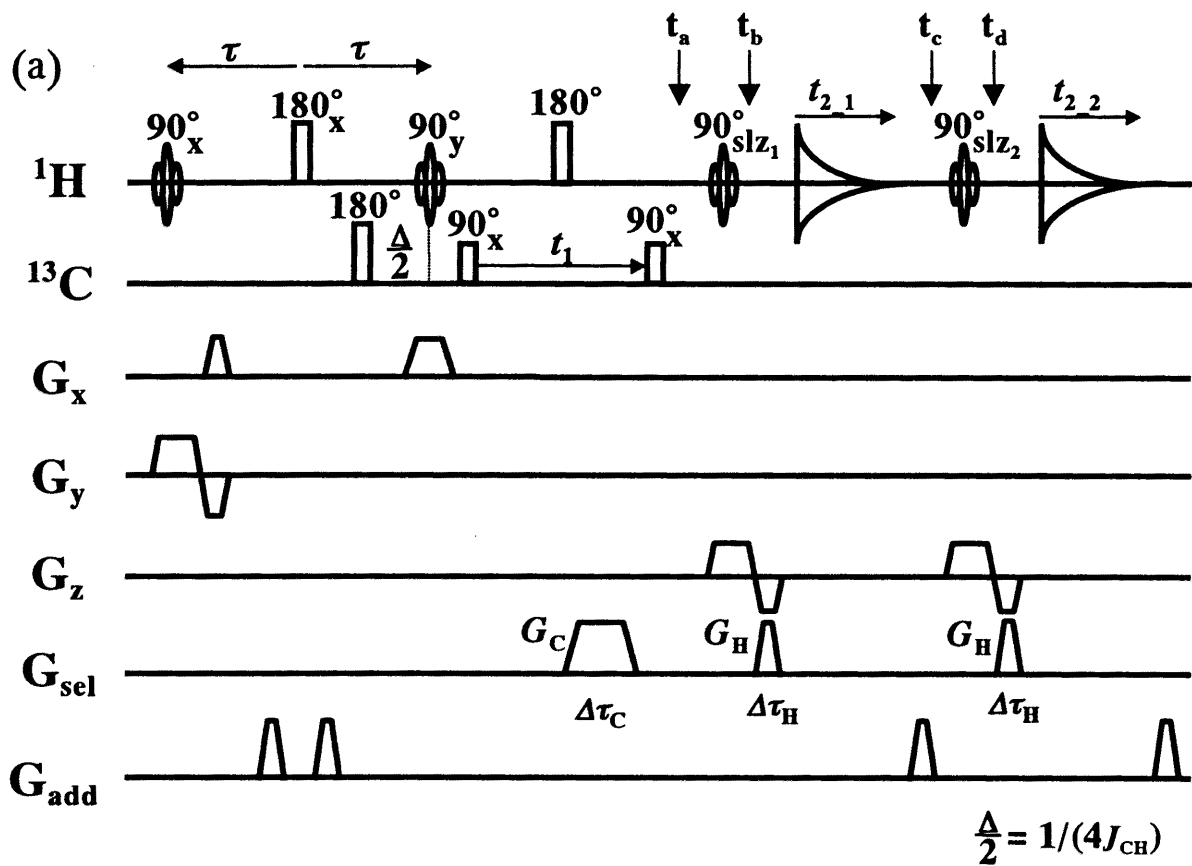


図5-1 マルチスライス HSQC シーケンス (a) と取得できるボクセル (b) を示す。 t_1 後の縦2スピン秩序、 $2I_z S_z$ に対してマルチスライスパルス 90°_{slz1} 、 90°_{slz2} を適用することで、同一スキャンでの V_1 、 V_2 領域からの HSQC 信号の取得を可能としている。

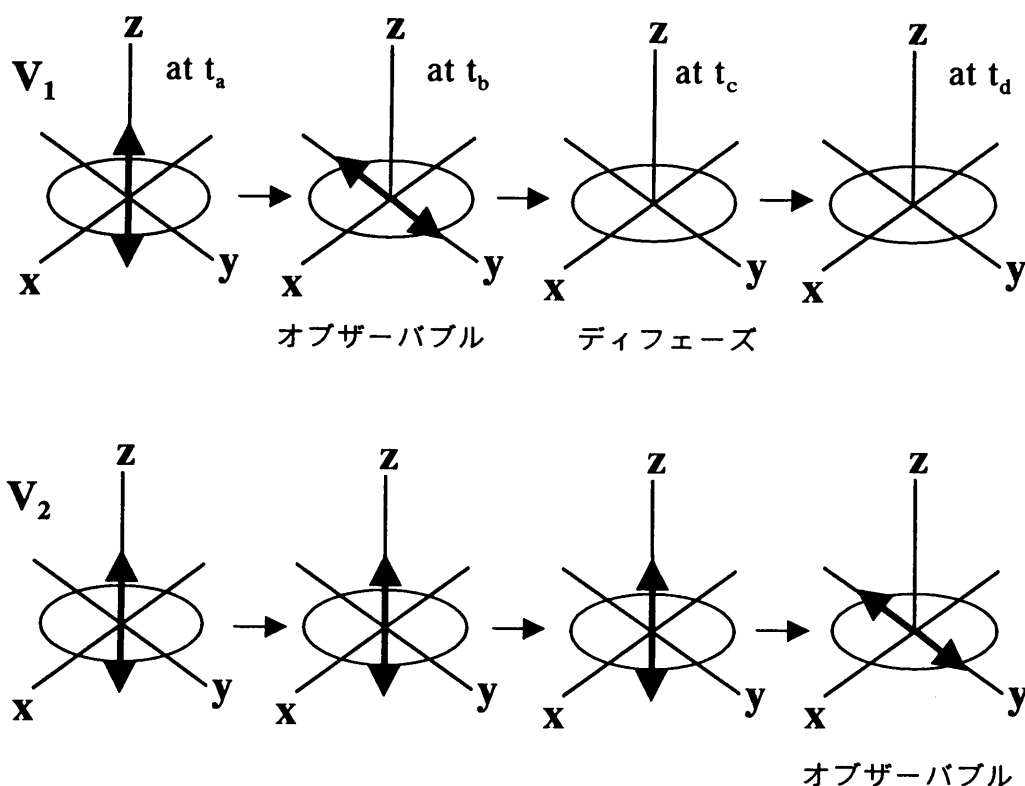


図5-2 マルチスライス HSQC シーケンスにおける V_1 、 V_2 での $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ 磁化ベクトルの動き。 90°_{slz1} パルスにより V_1 内 (上図) では $2I_xS_z \rightarrow -2I_yS_z$ となりオブザーバブルな磁化となるが、 V_2 内 (下図) では $2I_xS_z$ の状態を保持しており、観測できない (時刻 t_b)。 V_1 内の $-2I_yS_z$ をディフェーズした後 (時刻 t_c)、 90°_{slz2} パルスを印加して V_2 内にて $-2I_yS_z$ を生成し、 V_2 内の情報を取得することができる (時刻 t_d)。

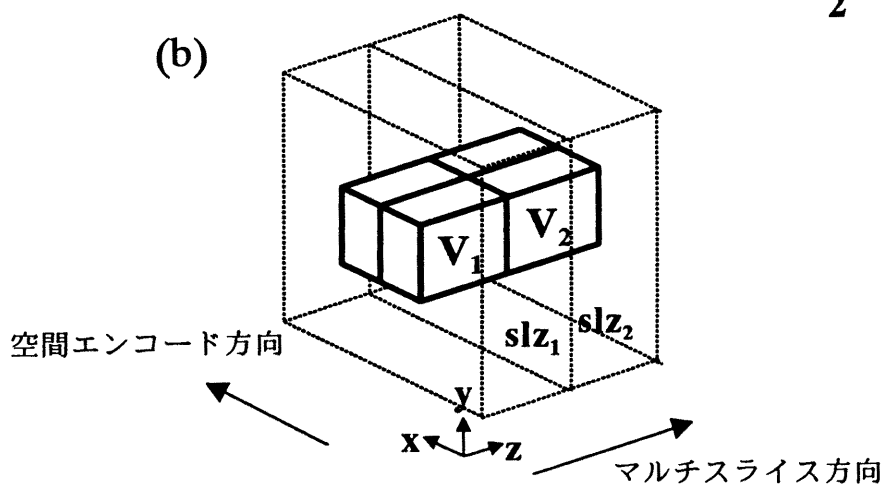
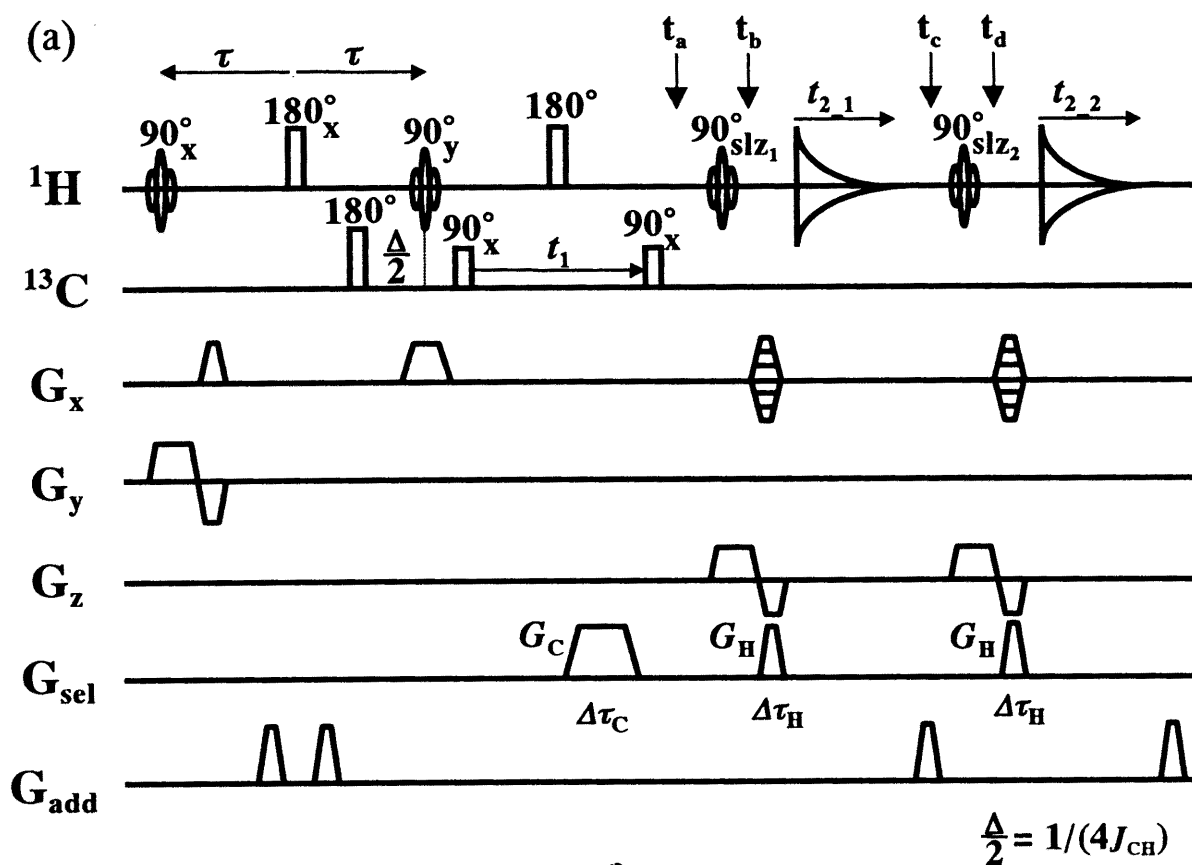


図5-3 位相エンコード勾配磁場パルスを付加したマルチスライス HSQC シーケンス。空間1D 位相エンコードを追加することにより、HSQC 信号の (b) に示す様な面内分布情報を取得することができる。

5.3 ファントム実験による実証

5.3.1 方法

マルチスライス HSQC シーケンスの性能を実証するために、 ^{13}C スペクトロスコピー研究用 2T 全身用 MRI 装置（東芝、日本）を用いてファントム実験を行った。ファントムには、1 g の $[2-^{13}\text{C}]$ 酢酸（99.3% 標識、ISOTEC、USA）と 1 g の $[1-^{13}\text{C}]$ エタノール（99.3% 標識、ISOTEC、USA）をそれぞれに注入した球ファントム（直径 10 mm）を用いた。RF コイルには、それぞれ ^1H 共鳴周波数（85.1 MHz）と ^{13}C 共鳴周波数（21.4 MHz）に同調をとった 2 つの直交配置した鞍型コイル（ ^1H 用は $\phi 185$ mm、 ^{13}C 用は $\phi 140$ mm）を用いた。この RF コイルの中に上記 2 つのファントムを設置し、マルチスライス方向である z 軸方向に設定した。このうち、 $[2-^{13}\text{C}]$ 酢酸ファントムは図 5-1 のマルチスライス HSQC シーケンスで取得できる V_1 領域に、そして $[1-^{13}\text{C}]$ エタノールは V_2 領域に設定した（第 5.2 節）。設定後、マルチスライス HSQC シーケンスを用いて、2 組の 2D $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ 相関スペクトルを取得した。それぞれの局所領域のサイズは、 $20 \times 20 \times 20 \text{ mm}^3$ であり、以下の順序で局所化を実施した。すなわち、準備期の 2 つの 90° (^1H) 選択励起パルスを用いて x 、 y の空間 2D の柱状の領域 ($20 \times 20 \text{ mm}^2$) を局所化し、次に逆分極移動パルスの 90° (^1H) パルスをマルチスライスパルスとして用いて 2 ボクセル V_1 、 V_2 の局所化（厚さ 20 mm、ギャップ 10 mm）を行った。 ^1H パルスは全て $\pm 4\pi$ の sinc 関数パルスとし、パルス幅は 2 ms とした。 ^{13}C パルスは全て矩形波パルスとし、パルス幅は $400 \mu\text{s}$ とした。 ^{13}C 反転パルスと第 3 番目の ^1H パルスとの間のディレイ $\Delta/2 = 1/(4J_{\text{CH}})$ は、1.8 ms とした。準備期の 2τ は 16 ms とし、TR は 500 ms とした。 t_1 方向の最大増加時間と t_2 方向のデータ収集時間は 64 ms とし、時間領域のマトリクス数は実部、虚部共に 128×128 ($t_1 \times t_2$) とした。窓関数によるアボダイゼーションは、 t_1 領域、 t_2 領域共に施さず、 256×256 にゼロフィリング後 2D フーリエ変換を行い、2 組の絶対値モードスペクトルを取得した。 F_1 方向 (^1H)、 F_2 方向 (^{13}C) の帯域はどちらも 2 KHz とした。コヒーレンス選択勾配磁場パルスには z チャンネルを用い、感度向上につながるコヒーレンス移動エコー生成のため、 $G_c \Delta \tau_c : G_H \Delta \tau_H = 4 : 1$ を満たす様に設定した。 G_c 、 G_H に対する勾配磁場強度は 8.5 mT/m とし、 $\Delta \tau_c = 10 \text{ ms}$ 、 $\Delta \tau_H = 2.5 \text{ ms}$ とした。位相サイクルには、以下の 4 位相サイクルを用いた。すなわち、第 3 番目の ^{13}C パルス位相 (x , $-x$, x , $-x$)、第 5 番目の ^1H パルス位相 (y , y , $-y$, $-y$)、受信位相 (x ,

$-x, -x, x$) である。また、第3番目の ^1H パルスの位相調整を、第4.3.1節で述べた方法を用いて実施した。

5.3.2 結果

マルチスライス HSQC シーケンスにより、 V_1 、 V_2 領域の2組の2D ^1H - ^{13}C 相関スペクトルが同時に取得できた。 V_1 スペクトルでは $[2-^{13}\text{C}]$ 酢酸の CH_3 ピークのみが検出されているのに対して、 V_2 スペクトルでは $[1-^{13}\text{C}]$ エタノールの CH_2 ピークのみが検出されている (図5-4)。この結果は、提案方法によってマルチボクセル2D ^1H - ^{13}C 相関スペクトロスコピーが可能であることを示している。さらに、空間1Dのエンコード勾配磁場パルスを印加することによって、 ^1H 感度で、かつ ^{13}C 化学シフト情報を利用した良好な代謝物分離性能で $^1\text{H}[^{13}\text{C}]\text{MRSI}$ が可能であると結論できる。

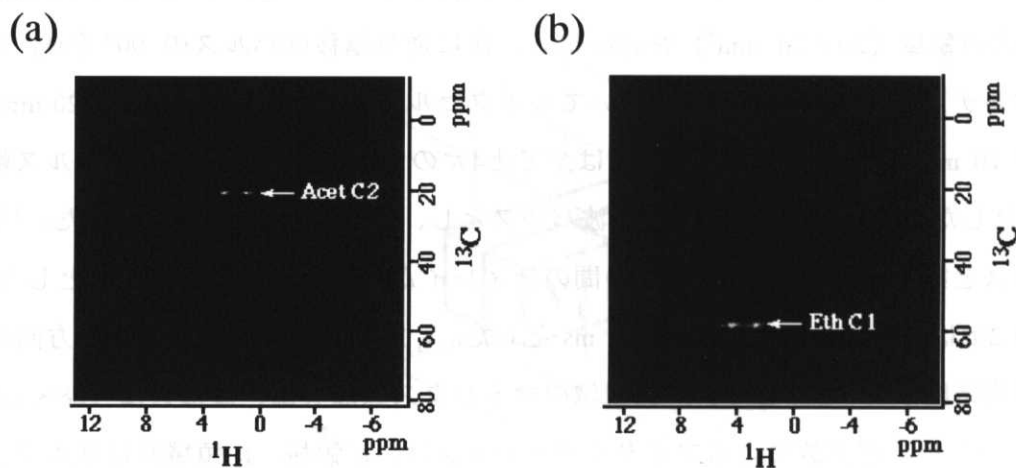


図5-4 マルチスライス HSQC シーケンスによって得られた2組の2D ^1H - ^{13}C HSQC スペクトル。絶対値表示で示している。 V_1 領域のスペクトルでは、酢酸2位 (Acet C2) のピークのみが検出された (a) のに対して、 V_2 領域のスペクトルではエタノール1位のピークのみが検出されている (b)。

5. 4 マルチスライス HSQC 法を用いた ^{13}C 標識グルコース経口投与後の人脳内アミノ酸代謝計測

5. 4. 1 方法

マルチスライス HSQC 法の人での有用性を実証するために、本方法による ^{13}C 標識グルコース投与後の脳内アミノ酸代謝試験を、 ^{13}C スペクトロスコピー研究用 2T 全身用 MRI 装置を用いて実施した。本試験は、医療福祉機器研究所の臨床評価委員会の承認を得た後、創価大学生命科学研究所倫理委員会の承認を得て実施した。対象は、前夜からの絶食の 7 人の健常人ボランティア（年齢：19 歳～25 歳；男性 4 名、女性 3 名）であり、実施前に試験について文書による同意を得た。本試験に先立ち事前検査として、問診、血圧検査、尿検査、糖負荷試験、心電図計測、MRI 撮像を実施し、糖尿病等の異常がないことを確認した。確認後、1 ヶ月以内に本試験を実施した。また、本試験終了後 1 ヶ月以内に事後検査として、MRI 撮像を除いて事前検査と同様の検査を実施し、異常がないことを確認した。

RF コイルには B_1 分布に起因する信号損を防ぎ、かつ受信感度を向上させる目的で、送受信分離型 RF コイルを用いた。送信用コイルには互いに直交配置された ^1H 用と ^{13}C 用の鞍型コイル（ ^1H 用は直径 300 mm、 ^{13}C 用は直径 250 mm）を用いた。受信用には、 ^1H 用サーフェスコイル（直径 100 mm）を用いた。

パルスシーケンスは、図 5-5 に示す空間 1D エンコード勾配磁場パルスを付加したマルチスライス HSQC シーケンスを用いた。局所励起の手順は次の通りである。すなわち、準備期で x 、 y の空間 2D で局所化された z 軸に平行な柱状領域（80 mm (x) \times 30 mm (y)) 内を限定する。これに続く t_1 後、逆分極移動パルスを厚さ 35 mm でギャップレスの z 方向のマルチスライスパルスとして用いて 2 ボクセルの局所化を行う。それぞれの逆分極移動パルス後に x チャンネルのエンコード勾配磁場パルスを印加している。このパルスによる空間分解能は 35 mm であり、すなわちボクセルのサイズは、 $35 \times 30 \times 35 \text{ mm}^3$ (37 ml) であった。脳内に相当するボクセル数は、マルチスライス方向、エンコード方向共に 2 ボクセルの計 4 ボクセルであった。

RF パルスに関しては、RF コイルを構成するコンデンサーの耐圧制限より印加可能な RF パルス強度が制限を受けるため、 ^1H 、 ^{13}C パルス共に 90° 、 180° パルスをパルス幅にて調整した。すなわち、全て $\pm 4\pi$ の sinc 関数パルスを用いた ^1H パルスに対しては、スライス選択パルスとして用いた 90° (^1H) パルス幅は 2 ms、 180° (^1H) パ

ルス長は 4 ms とした。90° (^{13}C) パルスにはパルス長 300 μs の矩形波パルスを用いた。一方、準備期の 180° (^{13}C) パルスには、静磁場強度 2T での ^{13}C の約 100 ppm の化学シフト範囲に相当する 2 kHz の周波数帯域を確保するため、パルス幅が 300 μs の矩形波 90° パルスと 600 μs の矩形波 180° パルスとで構成される複合パルス $90^\circ_x 180^\circ_y 90^\circ_x$ を用いた。図 5-6 にはパルス幅 600 μs の矩形波と複合パルスのそれぞれの反転特性を示しているが、この複合パルスを用いることで特性が改善し、周波数帯域が拡大することがわかる。

この ^{13}C 反転パルスと第 3 番目の ^1H パルスとのディレイ $\Delta/2 = 1/(4J_{\text{CH}})$ は、1.8 ms とした。準備期の時間長 2τ は 20 ms とし、TR は 900 ms とした。 t_1 の初期値および最大値はそれぞれ 47 ms、111 ms、 t_2 方向のデータ収集時間は 64 ms とした。時間領域のマトリクス数は、 $128 \times 128 \times 4 \times 2$ ($t_1 \times t_2 \times k_x \times$ マルチスライス数) とした。 t_1 (^{13}C) 領域には 2 Hz、 t_2 (^1H) 領域には 7 Hz の指数関数ラインブロードニングを掛けた。その後、ゼロ補填によりマトリクス数を $256 \times 256 \times 4 \times 2$ として 3D フーリエ変換により再構成した。コヒーレンス選択勾配磁場パルスにはマルチスライス勾配磁場パルスとして使用した z チャンネルを用い、感度向上につながるコヒーレンス移動エコー生成が可能でおよび勾配磁場パルス設計が容易な組み合わせである $G_c \Delta \tau_c : G_H \Delta \tau_H = 4 : 1$ を満たす様に設定した (第 4. 2. 3 節)。 G_c 、 G_H に対する勾配磁場強度は 8.5 mT/m とし、 $\Delta \tau_c = 20$ ms、 $\Delta \tau_H = 5$ ms とした。準備期に印加するクラッシャー勾配磁場パルスには y チャンネルを用い、検出期後のクラッシャー勾配磁場パルスには z チャンネルを用いた (図 5-5)。位相サイクルには以下の 2 位相サイクルを用いた。すなわち、第 3 番目の ^{13}C パルス位相 (x , $-x$)、受信位相 (x , $-x$) である。これらの設定により、TR、 t_1 エンコード数、空間エンコード数、位相サイクル数で決定される時間分解能は 15 分であった。

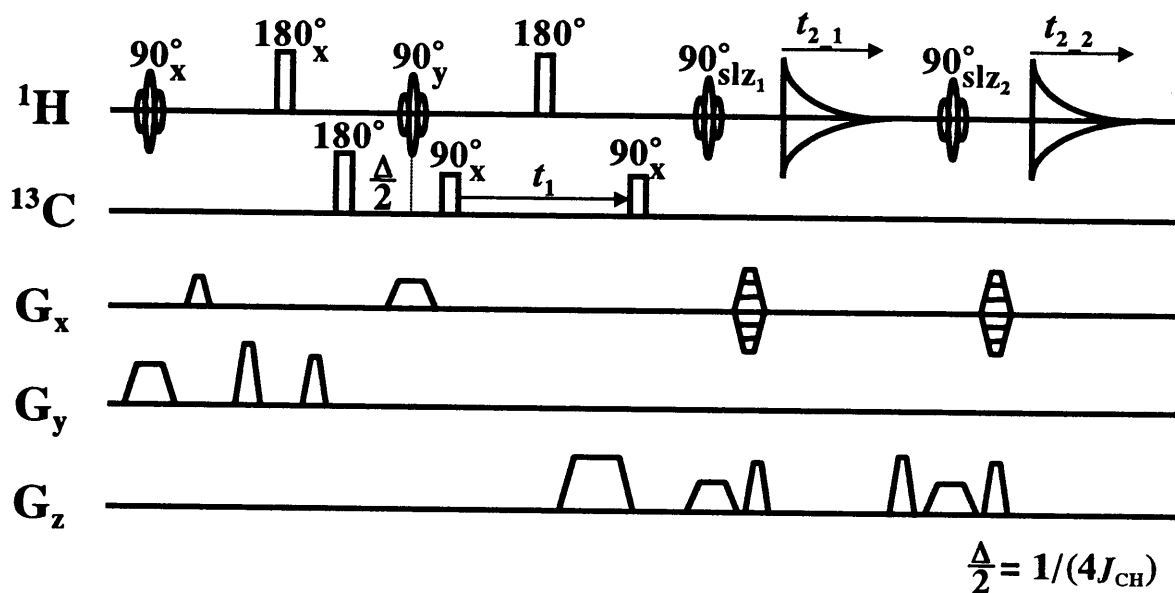


図5-5 人ボランティア試験にて使用したマルチスライス HSQC シーケンス。
 G_x 、 G_y 、 G_z のいずれのチャンネルでも水信号のモーメントが 0 にならない様に勾配磁場パルスを設定する必要がある。

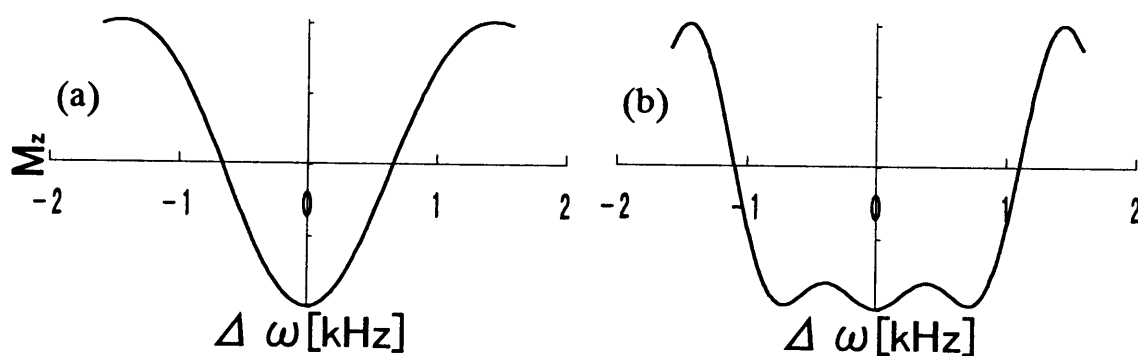


図5-6 反転パルスの周波数特性。(a) 矩形波パルス、(b) $90_x180_y90_x$ の複合パルス。矩形波と比較して、複合パルスの場合には、有効な周波数帯域が広がる。

本試験のプロトコルは次の様にした。まず送信用鞍型コイル内に設置した受信用サーフェスコイル内部に ^{13}C パワー調整のためのレファレンスファントム（直径 10 mm）を設置した。レファレンスファントムには、 $[2\text{-}^{13}\text{C}]$ 酢酸（99.3%標識、ISOTEC、USA）を注入したファントムを用いた。次に、ボランティアに鞍型コイル内に頭部を挿入してもらい、サーフェスコイル上に後頭部を載せて寝台上に仰臥してもらった。この後、磁石内部で RF コイルの同調、整合調整を行った。続いて、頭部 ^1H 画像を取得し位置決めを行い、脳内局所励起位置を決定した。次に、STEAM シーケンスによって得られる脳内局所領域（80（x）×35（y）×80（z）mm³）内の水信号を用いて、 T_2^* 最大となる様に磁場均一性調整を行った。これに続いて、上記脳内局所領域の同位相 PRESS 信号を用いて ^1H RF パワーを調整した。 ^{13}C RF パワーは、 $[2\text{-}^{13}\text{C}]$ 酢酸レファレンスファントムの HSQC 信号が最大となる様に調整した。RF パワー調整の後、第 3 番目の ^1H パルスの RF 位相を第 4. 3. 1 節で述べた方法で調整した。これらの調整の後、ボランティアに磁石外で起き上がってもらい、レファレンスファントムを RF コイルから取り除いた。そして、 $[1\text{-}^{13}\text{C}]$ D グルコース（99 %標識、ISOTEC、USA）の 30 %水溶液に炭酸を含ませた試薬を経口により投与した。標識グルコースの投与量は、体重 1 kg 当たり 1 g、0.5 g あるいは 0.25 g とした。試薬投与後、ボランティアに再び仰臥してもらった。そして、頭部 ^1H 画像により再度位置決めを行い、磁場均一性を確認した後、マルチスライス HSQC シーケンスを印加してスペクトルデータの収集を開始した。スペクトルの時間分解能は 15 分であり、測定は経口投与後、およそ 200 分まで続けた。本試験中、血糖値、インシュリン量および血漿中の ^{13}C 標識率の時間変化を調べるため、標識グルコース投与後 30 分、60 分、120 分そして 240 分に血液を採取した。

5. 4. 2 結果

図 5-7 に示す 3D 頭部画像上の 4 ボクセルから信号を取得し、全てのボクセルから 2D $^1\text{H}\text{-}^{13}\text{C}$ HSQC スペクトルの時間変化を取得することができた。図 5-8 には、投与量 1 g/kg のボランティアの V_3 領域からの投与後 135 分の積算スペクトルを示しており、グルタミン酸 3 位、4 位とアスパラギン酸 3 位が検出されている。図 5-9 にはそれぞれのピークの ^{13}C 化学シフトで横断した F_2 クロスセクション、すなわちそれぞれの物質の ^1H スペクトルと、 J_{CH} 二重線ピーク的一方に対応する ^1H 化学シフ

トで縦断した F_1 クロスセクション、すなわち ^{13}C スペクトルを示している。図 5-10 には、体重 1 kg 当たり 1 g、0.5 g、0.25 g のそれぞれの投与量でのアミノ酸代謝試験での 4 ボクセル全てにおけるグルタミン酸 4 位の信号強度の時間変化を示しており、いずれの場合でもグルタミン酸 4 位への ^{13}C の取りこみを観測することが可能であった。図 5-11 には、血糖値、インシュリン量および血中グルコースの ^{13}C 標識率の時間変化を示しているが、特に体重 1 kg 当たり 1 g と 0.5 g の場合には 120 分前後で約 70%～約 80%に達している。また、いずれの場合でも、血中グルコースの ^{13}C 標識率が上昇してから、これに続いてグルコースからの代謝物であるグルタミン酸 4 位の信号強度が最大値に達している。図 5-12 には、経口投与後 110 分におけるグルタミン酸 4 位のピークの ^{13}C 化学シフトで横断した F_2 クロスセクションを示しているが、いずれの投与量の場合でも $\text{S/N} \approx 2 \sim 3$ で検出されている。

さらに、図 5-13 には 3D 画像上に重ね合わせて表示したグルタミン酸 4 位画像の時間変化を示している。このグルタミン酸 4 位画像は以下の様にして作成した。まずグルタミン酸 4 位の信号強度の時間変化を、指数関数と 2 次多項式の積の関数で近似してボクセル毎にカーブフィットした。次に、得られた波形のそれぞれの時間における信号強度を計算し、これをボクセルのグルタミン酸 4 位の信号強度とした。その後、ボクセル間のスムージング処理を施してグルタミン酸 4 位画像を求めた。

以上より、マルチスライス HSQC 法を用いて経口投与後の人脳内マルチボクセルアミノ酸代謝計測が可能であることが実証できた。

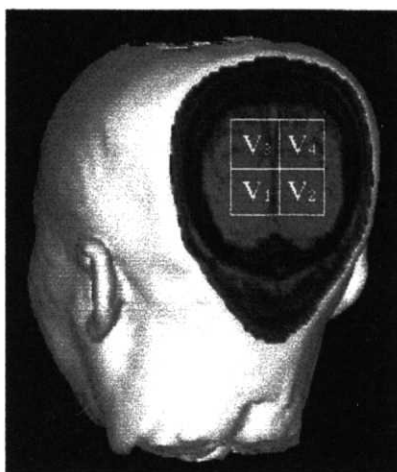


図5-7 フィールドエコー (FE) シーケンスで得た ^1H 画像をもとにサーフェスレンダリングを施して求めた人頭部 3D 画像。画像内に示す 4 ボクセルから HSQC スペクトルを取得した。

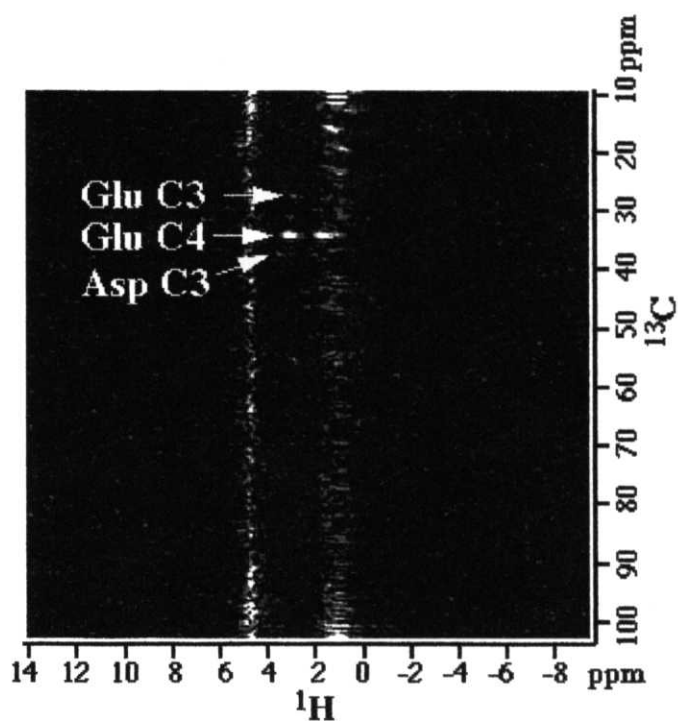


図5-8 1位標識グルコース (体重 1 kg 当たり 1g) を経口投与後の人脳積算 2D ^1H - ^{13}C HSQC スペクトル。空間分解能は 37ml。積算時間は 135 分に相当。絶対値表示で示している。グルタミン酸 3 位、4 位、アスパラギン酸 3 位が検出されている。

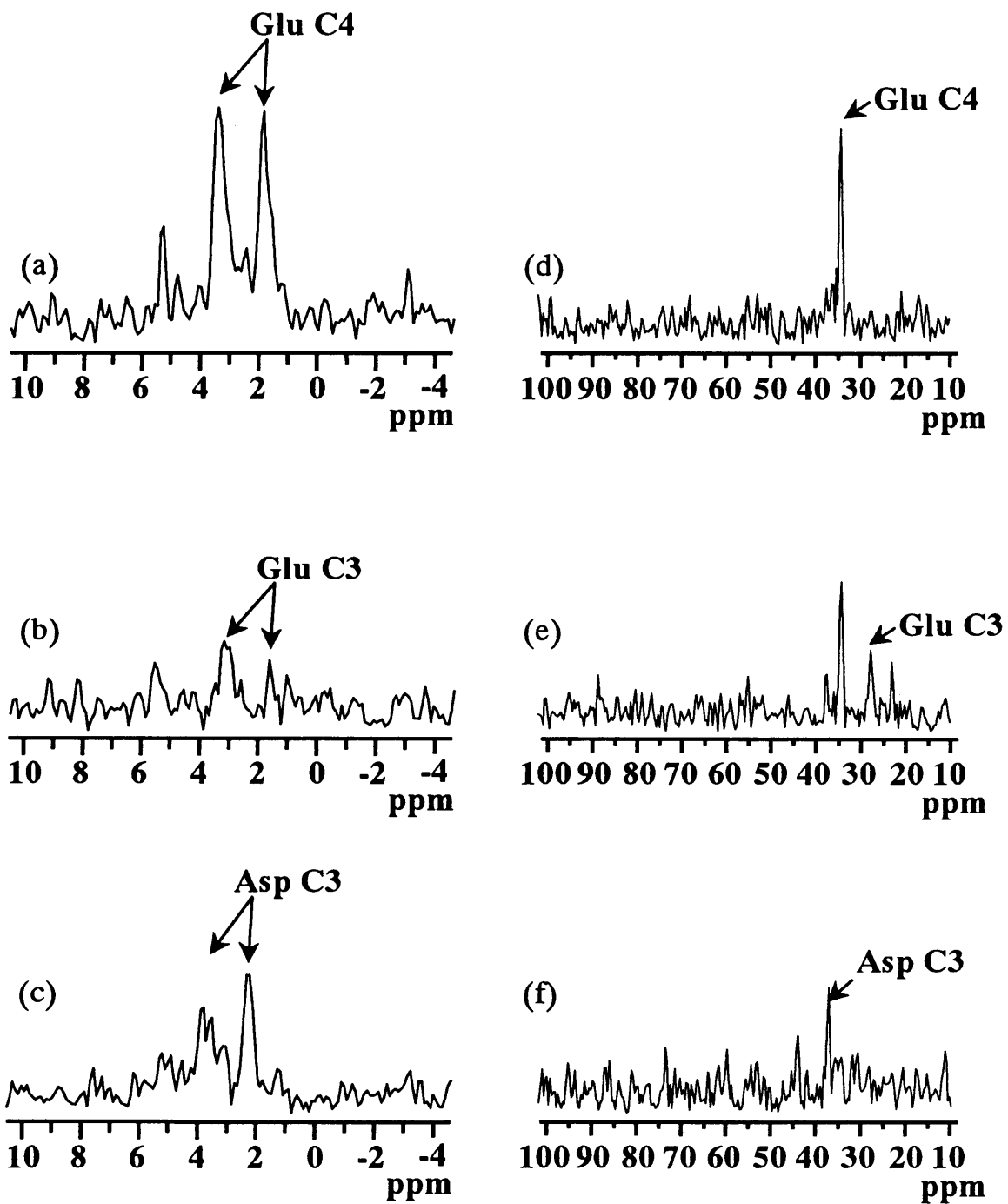


図5-9 積算スペクトルの各々のピークの F_2 および F_1 クロスセクション。それぞれグルタミン酸4位 (a)、(d)、3位 (b)、(e)、アスパラギン酸3位 (c)、(f) を示す。

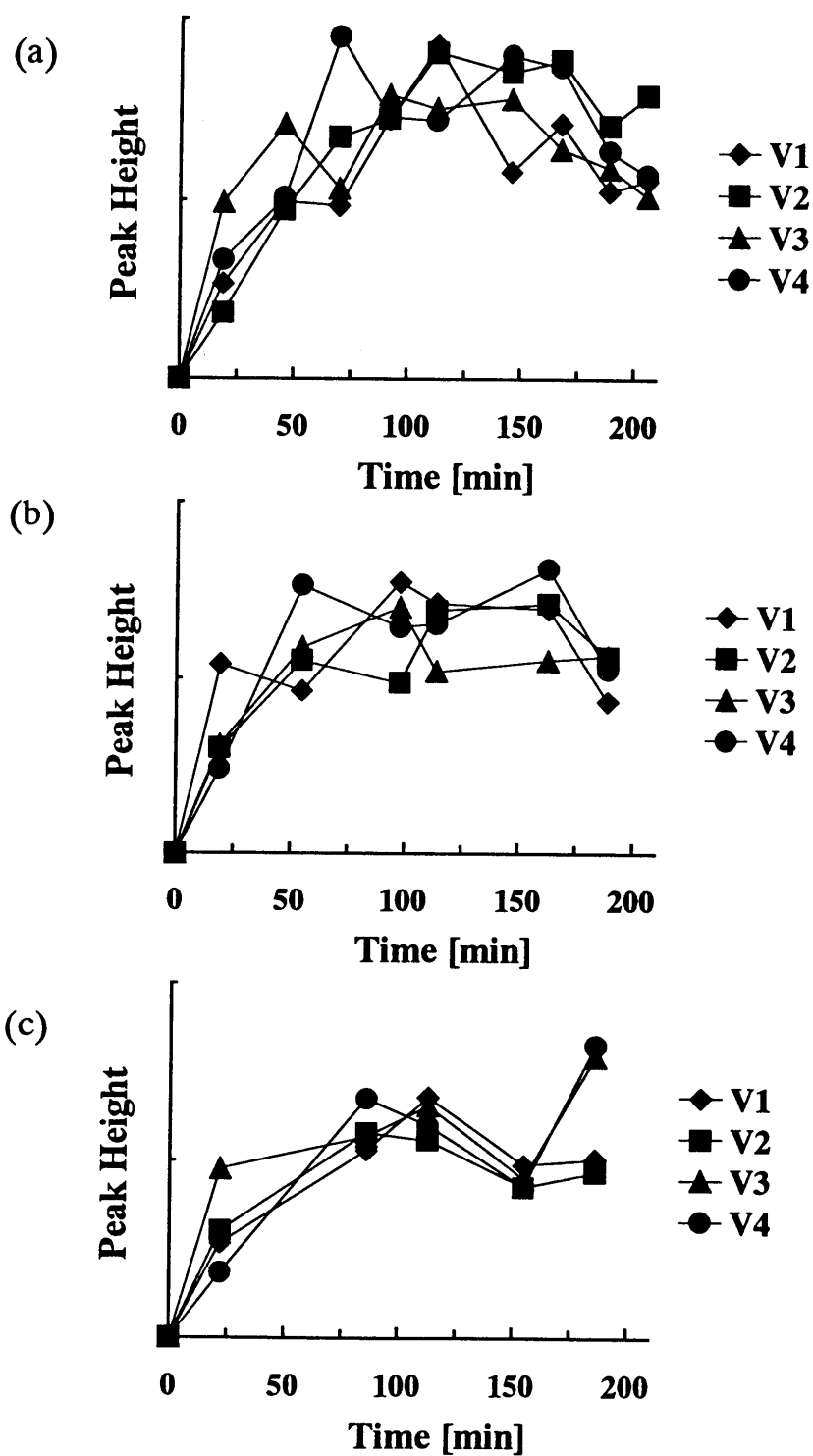


図5－10 時間分解スペクトルから求めた4ボクセルにおけるグルタミン酸4位のピーク高さの時間変化。それぞれ、投与量が体重 1kg 当たり (a) 1g、(b) 0.5g、(c) 0.25g の場合の時間変化を示す。いずれの場合も血中グルコースの ^{13}C 標識率の上昇に伴い (図5－11)、グルタミン酸4位が上昇している。

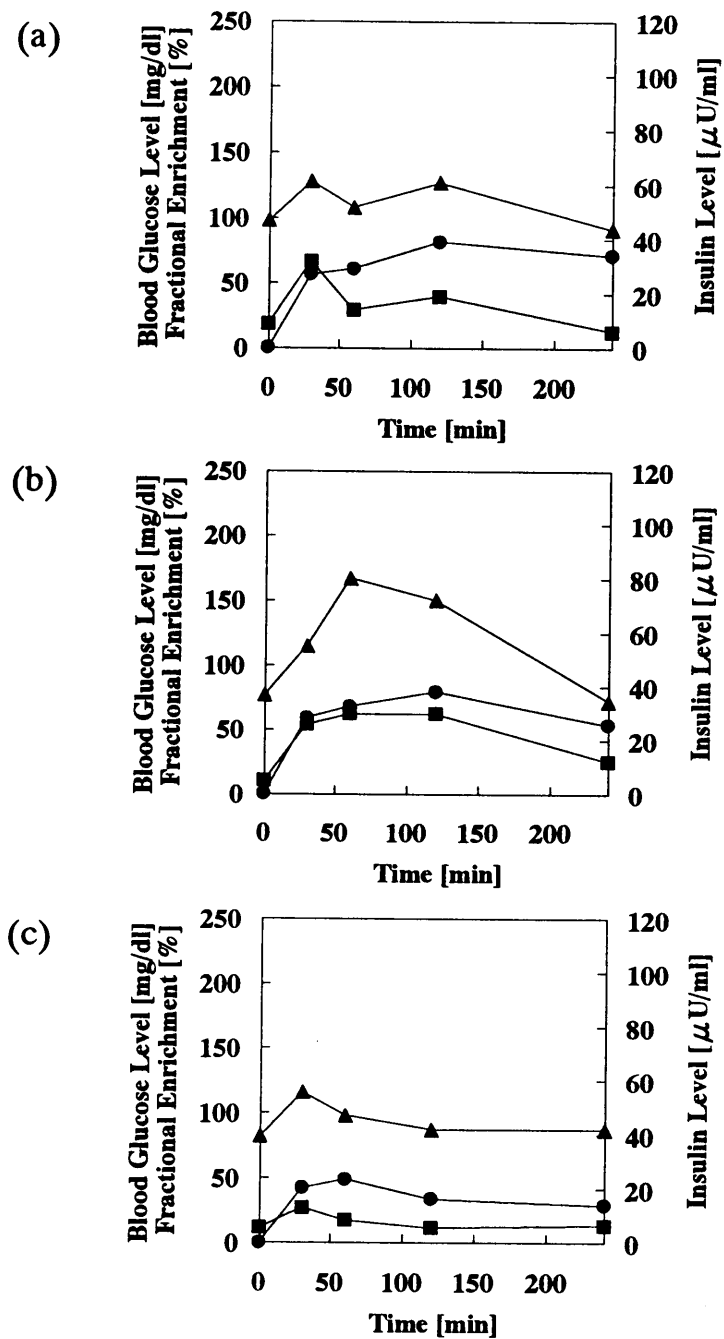


図5-11 血糖値 (▲)、インシュリン (■) および血中 ^{13}C グルコース標識率 (●) の時間変化。それぞれのグラフは、(a) 1 g、(b) 0.5 g、(c) 0.25 g の投与量における時間変化を示す。

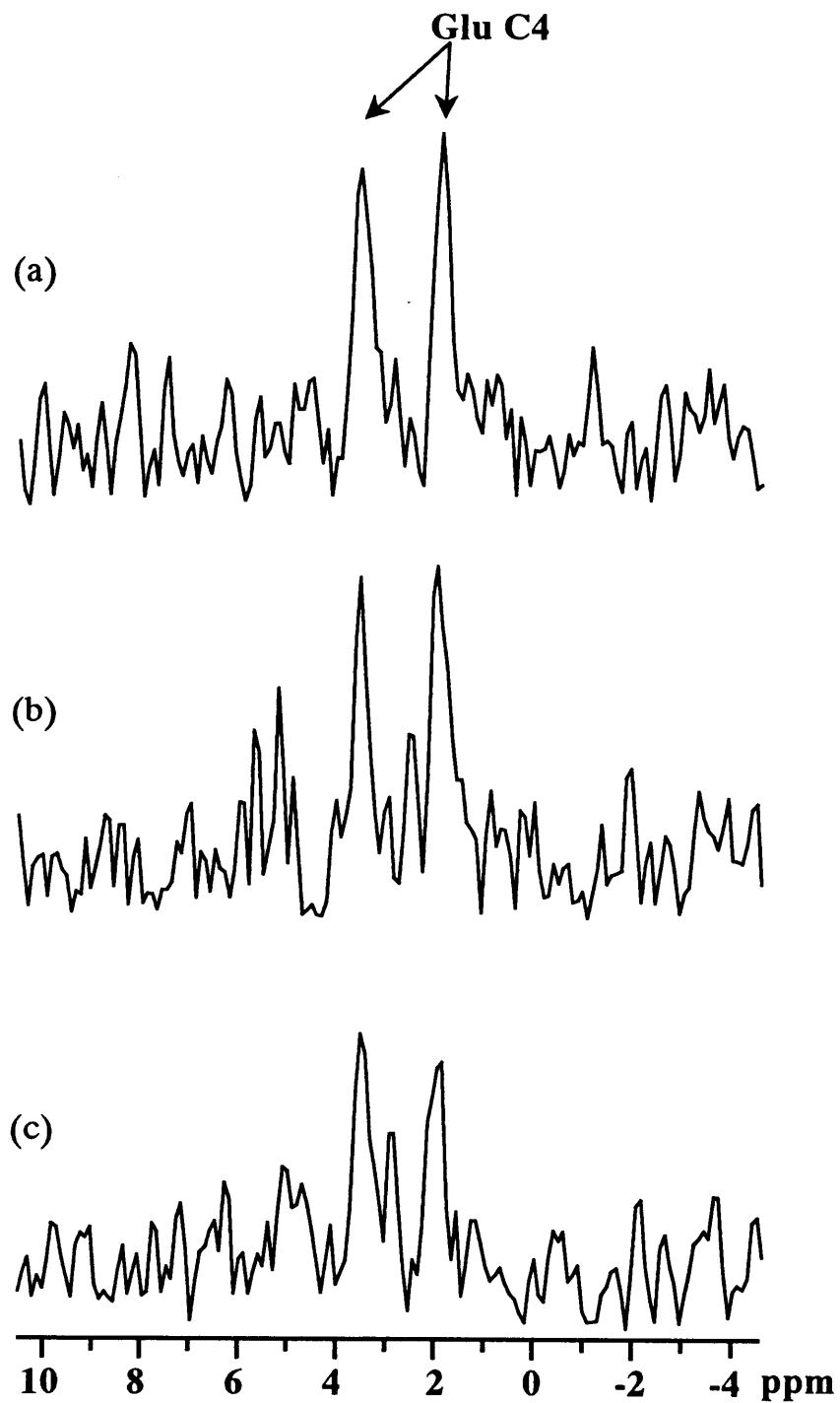


図5-12 経口投与後 110 分のグルタミン酸 4 位のピークにおける F_2 クロスセクション。時間分解能は 15 分。それぞれ (a) 1 g、(b) 0.5 g、(c) 0.25 g の投与量のスペクトルを示す。

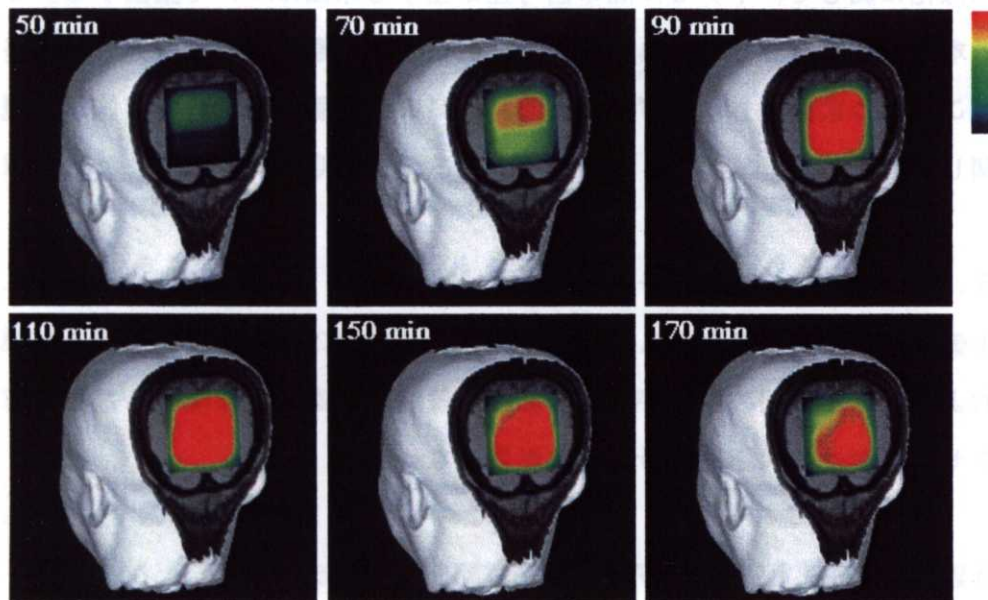


図 5 - 1 3 3D 頭部画像上に重ね合わせたグルタミン酸 4 位の画像の時間変化。
 全ての部位（4 ボクセル）で徐々にグルタミン酸 4 位に ^{13}C が取りこまれる様子を
 示している。

5. 5 考察

In vivo ^{13}C MRSI を目的としてマルチスライス HSQC 法を提案し、この方法により全身用 MRI 装置においても ^1H 感度でかつ ^{13}C 化学シフトを用いた代謝物分離が可能なマルチボクセルスペクトロスコピーが実現できることを実証した。以下のこの節では、画像化に関して、ボクセル間の信号差が生ずる原因について議論する。この原因には、本方法に特有なマルチスライス方向に生ずる信号差と、その他の信号差があり、以下、この2つに分類して論ずる。また、アミノ酸代謝計測試験で実施した経口投与方法に関して論ずる。

5. 5. 1 ボクセル間の信号差に関して

マルチスライス方向に生ずる信号差の原因としては、縦2スピン秩序における緩和、拡散およびスライス間の干渉がある。これらは時間には非依存であるため、それぞれのボクセルにおける代謝速度計測には影響しない。

5. 5. 1. 1 縦2スピン秩序における緩和

マルチスライス HSQC 法では、展開期後の 90° (^{13}C) パルスにより、 $2I_z S_z$ が生起され、これに続く 90° (^1H) 選択励起パルスによりマルチスライスを行う。まず第1の 90° (^1H) 選択励起パルスが印加されて、第1番目のボクセルからの信号が得られる。このボクセル外の領域では、 $2I_z S_z$ の状態が保持されており、第2の 90° (^1H) 選択励起パルスが印加されて、第2番目のボクセルからの信号が得られる。従って、 $2I_z S_z$ の状態を保持する時間長が第1番目と第2番目のボクセルとでは異なる。この $2I_z S_z$ の状態では、 ^1H 磁化、 ^{13}C 磁化共に縦磁化であるため、緩和速度は遅いものの、スライス毎に若干の信号差を生じる可能性がある。スキャン時間の増加につながるが、 $2I_z S_z$ の緩和時間を計測することでこの差を補正することが可能である。

5. 5. 1. 2 拡散

水信号除去のためのコヒーレンス選択勾配磁場パルスによる拡散も、スライス面ごとの信号差の原因となる。これは、展開期の再結像 ^1H パルスの後に印加するコヒーレンス選択勾配磁場パルス G_c と、検出期の ^1H パルス以降のコヒーレンス選択勾配磁場パルス G_H によるものである。これらの勾配磁場パルスによる b 因子は今回のボ

ランティア試験の場合 10 s/mm^2 程度であり影響は小さいものの、これらの G_c と G_H の間隔はスライス面毎に異なるため、スライス面毎に信号減衰の程度が異なる可能性がある。

5. 5. 1. 3 スライス特性

スライス特性も信号差の原因となる。しかし、RF パルス設計を用いたスライス特性の最適化により、マルチスライス方向のスライス間の干渉を減らすことで、さらに感度の良いスペクトル取得が期待できる。

5. 5. 2 その他の信号差

信号差を生じさせるその他の原因としては、ボクセル間の磁場不均一性の差、動きによるブラリング、ボクセル内の組織差、 B_1 分布が挙げられる。

5. 5. 2. 1 磁場不均一性

今回、信号強度として用いたピーク値は、磁場不均一性を起因とする半値幅の広がりによって変化する。このため、ボクセル間の磁場不均一性の差が信号強度に影響を及ぼす。この対策としては、スペクトル処理を用いて 2D スペクトルのピーク体積を求める方法が良い。

5. 5. 2. 2 動きの影響

動きにより、2つのエンコード方向、すなわち、 t_1 方向および空間軸方向（1軸に位相エンコードを行ったため）にブラリングが生ずる。得られた人脳スペクトルで F_1 軸方向にはブラリングは無い様である。しかし、ナビゲーターエコー等の利用によりスペクトルの質の向上につながる可能性がある。

5. 5. 2. 3 ボクセル内の組織差

ボクセル毎に含まれる組織の差も信号差の原因となる。これは、現状でボクセルが $35 \times 30 \times 35 \text{ mm}^3$ であることに起因している。水信号抑圧パルスの利用、傾斜磁場系の強化等により高感度化をはかり、ボクセルサイズを小さくしていく必要がある。

5. 5. 2. 4 RF 分布

送信、受信ともに B_1 分布がボクセル間の信号差の原因となる。HSQC は多数の RF パルスを用いているため、信号強度はフリップ角の誤差に敏感である。つまり、送信は、ボクセル間の信号差の原因となる。これを防ぐために、送信用に体積 RF コイルを用いている。受信 B_1 分布も、信号強度の差に影響するが、受信コイルとしては感度が良好なためにサーフェスコイルを使用するのが良いため、受信 B_1 分布に対しては補正により対処するのが良い。

5. 5. 3 経口投与法

脳内のアミノ酸代謝では、まず血中のグルコースが脳内に輸送され、脳内でグルタミン酸等のアミノ酸に代謝される。つまり、 ^{13}C 標識グルコースを投与する場合、無標識グルコースと ^{13}C 標識グルコースとが脳内に取りこまれ、このうち後者の ^{13}C 標識グルコースの ^{13}C がグルタミン酸 4 位に取りこまれる。従って、血中グルコースの ^{13}C 標識率 (^{13}C の濃度 / (^{13}C の濃度 + ^{12}C の濃度)) が代謝モデルの入力となり、グルタミン酸 4 位の ^{13}C 標識率が出力の一つとなる^[5-6]。このため、血中グルコースの ^{13}C 標識率の立ち上がりと最大到達値が重要となる。この入力関数を簡素化するために、Yale 大、Basel 大でのアミノ酸代謝試験では、静脈注射により血中グルコースの ^{13}C 標識率を素早く立ち上げ、その後一定のプロトコルに従って持続的に投与し続ける^{[5-7] ~ [5-10]}。この結果、血中グルコースの ^{13}C 標識率は時間に依らずほぼ一定となる。Yale 大ではこれを入力としてグルコースからアミノ酸への代謝モデルによる解析を行い、TCA 回路の代謝回転等の定量解析を行っている^{[5-6], [5-10]}。しかし、この一定投与法では、カテーテルにて静脈への注入路を確保する必要があるため被検者への負荷が大きい。これに対して、本章で示したボランティア試験では、被検者への負荷が小さいためより臨床応用に近いと期待される経口投与法を用いた。この方法では、まず投与されたグルコースは小腸から吸収されて血中に取りこまれる。従って、血中グルコースの ^{13}C 標識率の立ち上がりは一定投与法と比較して緩やかであり、最大値に到達するまで約 2 時間程度が必要であった (図 5-11)。しかし、最大で約 70%~80%まで ^{13}C 標識率が上昇するためグルタミン酸 4 位への取りこみは十分であることが予想され、マルチスライス HSQC 法により信号検出することが可能であった。従って、経口投与時の血中グルコース ^{13}C 標識率の時間変化を入力値として上記

のグルコースからアミノ酸への代謝モデル^{[5-6], [5-10]}を用いて解析することにより、経口投与法でも一定投与法と同等の代謝解析が可能である。

5.6 まとめ

本章では、第4章で提案した局所励起 HSQC 法をさらに発展させて、同一のスキューン時間で空間1軸方向に複数のボクセルからの2D HSQC スペクトルの取得が可能なマルチスライス HSQC 法を提案した。本方法は、展開期後の縦2スピン秩序、すなわち $2I_zS_z$ に対してマルチスライス技術を適用することで、マルチボクセルスペクトロスコピーを可能としている。さらに、空間エンコード勾配磁場パルスを空間1軸に適用するだけで、面内の代謝物分布の取得が可能となる。本方法を用いたファントム実験で、複数の部位からの2D HSQC スペクトルが取得できることを実証した。さらに、本方法を用いて ^{13}C 標識グルコース経口投与後の人脳アミノ酸代謝計測を実施した。この結果、時間分解能 15 分、空間分解能 37 ml で脳内 4 ボクセルからの信号を取得することが可能であった。さらに得られたグルタミン酸 4 位の信号から画像による時間変化をとらえることができた。同時に、臨床応用が容易な経口投与法の有用性を実証できた。以上より、マルチスライス HSQC 法は人脳アミノ酸代謝計測に有用であることが実証できた。

参考文献

- [5-1] H. Watanabe, Y. Ishihara, K. Okamoto, K. Oshio, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, "Human brain glucose metabolism mapping using multislice 2D ^1H - ^{13}C correlation HSQC spectroscopy", *Magn. Reson. Med.*, vol. 43, pp. 525-533, 2000.
- [5-2] H. Watanabe, M. Umeda, Y. Ishihara, K. Okamoto, M. Oda, K. Oshio, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, "Multivoxel ^1H - ^{13}C HSQC spectroscopy using multislice techniques with a 2IzSz state", *Proc. of International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 5th Annual Meeting, Vancouver, p.1436, 1997.
- [5-3] H. Watanabe, M. Umeda, Y. Ishihara, K. Okamoto, M. Oda, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, "Human brain metabolism mapping using multislice ^1H - ^{13}C HSQC spectroscopy", *Proc. of International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 6th Annual Meeting, Sydney, p. 360, 1998.
- [5-4] R. R. Ernst, G. Bodenhausen and A. Wokaun, "Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions," Oxford, Clarendon Press, 1987.
- [5-5] R. R. イルスト, G. ボーデンハウゼン, A. ウォーガン共著, 永山国昭, 藤原敏道, 内藤晶, 赤坂一之共訳, "イルスト 2 次元 NMR 原理と測定法", 京都, 吉岡書店, 1991.
- [5-6] G. F. Mason, R. Gruetter, D. L. Rothman, K. L. Behar, R. G. Shulman and E. J. Novotny, "Simultaneous determination of the rates of the TCA cycle, glucose utilization, α -Ketoglutarate/glutamate exchange, and glutamine synthesis in human brain by NMR", *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, vol. 15, pp. 12-25, 1995.
- [5-7] N. Beckmann, I. Turkalj, J. Seeling, U. Keller, " ^{13}C NMR for the assessment of human brain glucose metabolism *in vivo*", *Biochemistry*, vol. 30, pp. 6362-6366, 1991.
- [5-8] R. Gruetter, E. J. Novotny, S. D. Boulware, G. F. Mason, D. L. Rothman, G. I. Schulman, J. W. Prichard, R. G. Shulman, Localized ^{13}C NMR spectroscopy in the human brain of amino acid labeling from D-[1- ^{13}C] glucose, *J. Neurochem.*, vol. 63, pp. 1377-1385, 1994.
- [5-9] R. Gruetter, E. R. Seaquist, S. Kim and K. Ugurbil, "Localized *in vivo* ^{13}C -NMR of glutamate metabolism in the human brain: initial results at 4 tesla", *Dev. Neurosci.*, vol. 20, pp.380-388, 1998.

- [5-10] J. Shen, K. F. Petersen, Kelvin L. Behar, P. Brown, T. W. Nixon, G. F. Mason, O. A. C. Petroff, G. L. Shulman, R. G. Shulman and D. L. Rothman, "Determination of the rate of the glutamate/glutamine cycle in the human brain by *in vivo* ^{13}C NMR", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 96, pp. 8235-8240, 1999.

第6章 マルチスライス HSQC 法の高感度化^{[6-1], [6-2]}

6.1 序

第5章では、 ^1H 観測法である局所励起 HSQC 法を、マルチボクセルスペクトロスコピーに応用したマルチスライス HSQC 法を提案した。この方法を用いて、 ^{13}C 標識グルコース経口投与後の人脳 2D ^1H - ^{13}C HSQC スペクトルを時間分解能 15 分、空間分解能 37 ml で取得し、人への応用が可能であることを実証した。本章では高感度化および定量精度の向上について検討する。

第4.5節では、局所励起 HSQC 法に関して勾配磁場系の強化によって準備期 2τ 、展開期の時間短縮が実現でき、高感度化につながると論じた。これに関して、本章ではまず信号減衰に関してグルタミン酸ファントムを用いて評価し、どの程度の感度向上が見込めるかを検討する。続いて、臨床 MRI 装置相当の仕様である最大勾配磁場強度 10 mT/m、立ち上がり時間 1 ms に対して 30 mT/m、200 μs の勾配磁場系を開発し、高感度化に関して実証する。

また、本章では定量解析のためのカーブフィッティング法を開発し、*in vivo* スペクトルに適用する。局所励起 HSQC 法およびマルチスライス HSQC 法では、RF パルス数を最小化するため逆分極移動後の再結像パルスが非印加のパルスシーケンスとなっている。この結果、得られる 2D スペクトルに位相補正を施すと、ベースプレーンの歪みを起こす。また、生体内の発熱およびデカップリングノイズを避けるために、検出期 (t_2) での ^{13}C デカップリングパルスを非印加としており、得られる 2D スペクトル上で J_{CH} の 2 重線が観測される。開発したカーブフィッティング法は、これらの特徴を加味したモデル式を用いた実部および虚部スペクトルに適用する非線形複素最小二乗法による方法である。本方法の定量精度を誤差伝播式を用いて評価する。そして、本方法を人脳スペクトルに適用する。

さらに、人ボランティア試験を実施し、高感度化について報告する。

6.2 勾配磁場系の強化による高感度化

第4.5節で論じた様に、局所励起 HSQC 法およびマルチスライス HSQC 法では、勾配磁場系の強化により、準備期および展開期の時間長を短縮することができる。これらの時間短縮による感度向上をグルタミン酸ファントムにより評価した。装置には、

^{13}C スペクトロスコピー研究用 2T 全身用 MRI 装置（東芝、日本）を用いた。ファントムには 200 mM のグルタミン酸ファントム（天然存在 ^{13}C の濃度は約 2 mM に相当）を用い、以下の準備期および展開期の時間長での 2D ^1H - ^{13}C HSQC スペクトルを取得した。すなわち、準備期に対しては $2\tau = 4.6, 10, 20, 40$ ms とした。展開期に対しては、最小時間 $t_{1\min} = 20, 60, 100, 150$ ms とした。

得られた信号強度の変化を図 6-2 に示す。信号強度の時間変化を指数減衰で近似した結果、準備期ではグルタミン酸 2 位、3 位、4 位に対してそれぞれ時定数が 53 ms、31 ms、33 ms であった。一方、展開期ではそれぞれ 100 ms、130 ms、150 ms であった。これらの時間長に関し、第 5 章で論じたボランティア試験では $2\tau = 20$ ms、 $t_{1\min} = 47$ ms であった。これに対して、勾配磁場強度 30 mT/m、立ち上がり時間 200 μs の勾配磁場系を用いると、 $2\tau = 12$ ms、 $t_{1\min} = 15$ ms とすることが可能となる。この結果、準備期では 1.2~1.3 倍、展開期では 1.2~1.4 倍で合計 1.6 倍~1.7 倍の感度向上が得られる計算となる。

次に、ブースタ勾配磁場電源および新たに設計した勾配磁場コイルを MRI 装置に組み込み、 $2\tau = 12$ ms、 $t_{1\min} = 15$ ms を実現し、上記グルタミン酸ファントムによる感度向上効果の評価を行った。この結果、上記計算結果と同等の約 1.5 倍の S/N の向上が認められ、高感度化が可能であることが実証できた。

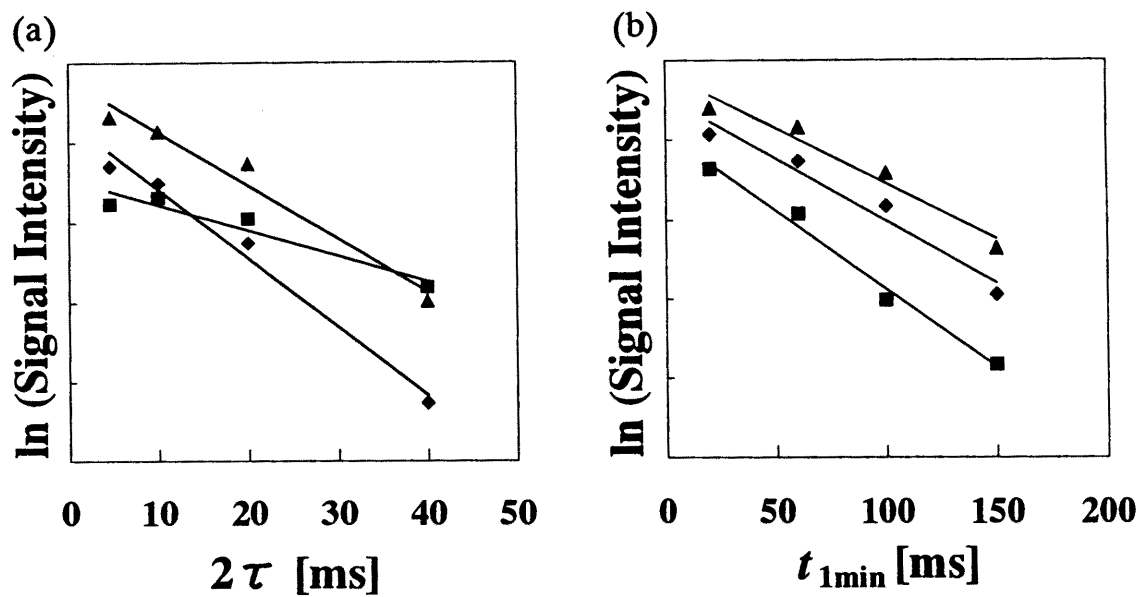


図 6 - 1 準備期の時間長 2τ および展開期最小時間長とグルタミン酸 2 位 (■)、3 位 (◆)、4 位 (▲) の信号強度の関係。

表 6 - 1 勾配磁場系の強化による高感度化 (計算値)

	Glu C2	Glu C3	Glu C4
準備期	1.16 倍	1.29 倍	1.27 倍
展開期	1.38 倍	1.28 倍	1.24 倍
準備期、展開期	1.61 倍	1.66 倍	1.58 倍

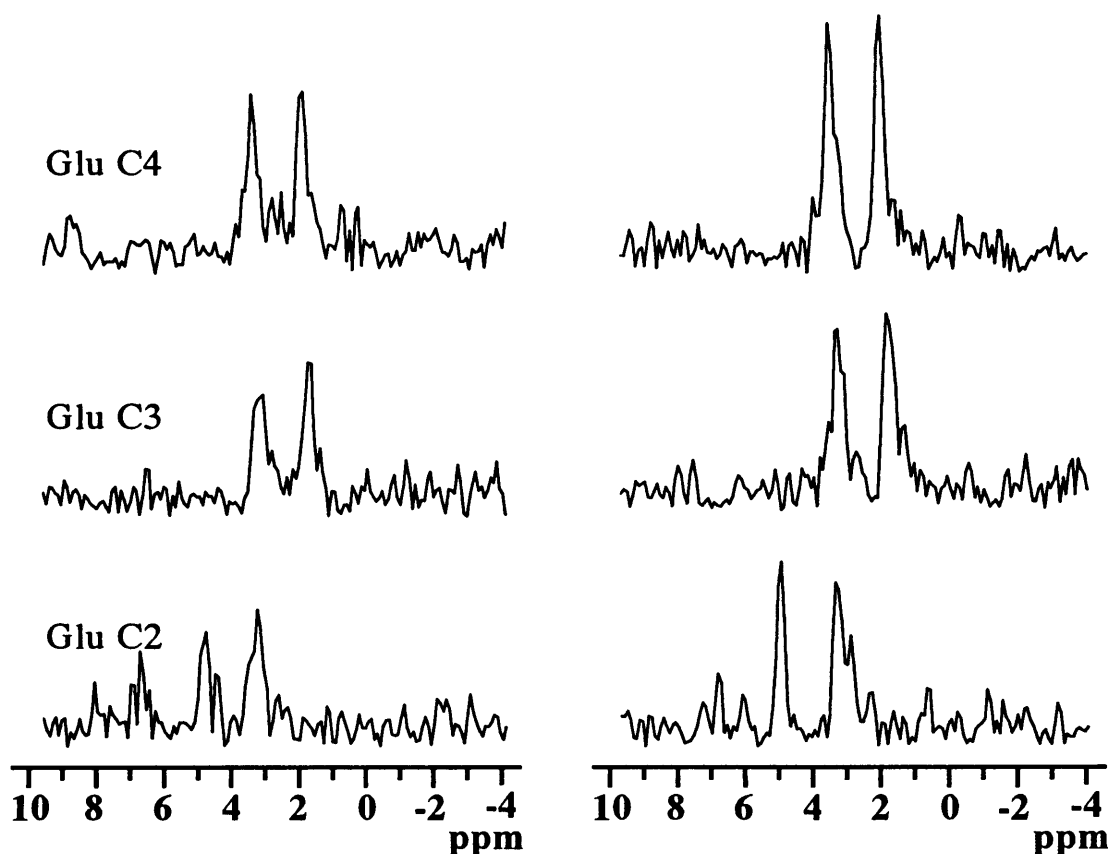


図 6-2 勾配磁場系の強化による HSQC スペクトルの S/N 向上効果を示す。左側のスペクトルは $(2\tau, t_{1\min}) = (20 \text{ ms}, 47 \text{ ms})$ の条件で取得した 2D HSQC スペクトルの F_2 クロスセクション。右側は $(12 \text{ ms}, 15 \text{ ms})$ の条件で取得した F_2 クロスセクション。

6. 3 複素非線形最小二乗法を用いた 2D カーブフィッティング

マルチスライス HSQC シーケンスで得られる 2D $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HSQC スペクトル上で、代謝物のピークは F_1 (^{13}C 化学シフト) 領域領域では δ_{C} 、 J_{CC} 、 F_2 (^1H 化学シフト) 領域では δ_{H} 、 J_{CH} 、 J_{HH} で分離検出される。このうち、 J_{HH} は *in vivo* では不均一性のため分離することはできない。また、脳内アミノ酸代謝計測では、隣り合う炭素原子がどちらも ^{13}C となる頻度は低く [6-3] - [6-5]、この結果 J_{CC} を無視したモデルで十分にカーブフィッティング可能と期待できる。従って、 F_1 領域に δ_{C} 、 F_2 領域に δ_{H} 、 J_{CH} を考慮すれば十分である。さらに、 ^{13}C 化学シフトによる分離のため、各々の代謝物ピークは良好に分離できる。このため、それぞれの代謝物ピーク毎にカーブフィッティングすることが可能であり、それぞれの 2D スペクトルを、 J_{CH} を既知情報として

以下の7成分のパラメータを用いた2D Lorentzian モデル $L(\omega_1, \omega_2)$ で近似することができる。すなわち、ピーク体積 V , F_1 軸, F_2 軸方向の共鳴周波数 $\omega_{\text{ctr}1}$, $\omega_{\text{ctr}2}$, 0 次位相 ϕ_0 および J_{CH} 2 重線ピークの1次位相差 ϕ_1 である。

$$L(\omega_1, \omega_2; V, \omega_{\text{ctr}1}, \omega_{\text{ctr}2}, \alpha_1, \alpha_2, \phi_0, \phi_1) \\ = \exp(i\phi_0)V[A_1 + iD_1][(A_{21} + iD_{21}) + \exp(i\phi_1)(A_{22} + iD_{22})] \quad [6-1]$$

但し、

$$A_1 = \alpha_1 / [\alpha_1^2 + (\omega_1 - \omega_{\text{ctr}1})^2] \quad [6-2]$$

$$D_1 = -(\omega_1 - \omega_{01}) / [\alpha_1^2 + (\omega_1 - \omega_{\text{ctr}1})^2] \quad [6-3]$$

$$A_{21} = 0.5\alpha_2 / [\alpha_2^2 + (\omega_2 - (\omega_{\text{ctr}02} - 2\pi J_{\text{CH}}/2))^2] \quad [6-4]$$

$$D_{21} = -0.5\alpha_2 / [\alpha_2^2 + (\omega_2 - (\omega_{\text{ctr}2} - 2\pi J_{\text{CH}}/2))^2] \quad [6-5]$$

$$A_{22} = 0.5\alpha_2 / [\alpha_2^2 + (\omega_2 - (\omega_{\text{ctr}2} + 2\pi J_{\text{CH}}/2))^2] \quad [6-6]$$

$$D_{22} = -0.5\alpha_2 / [\alpha_2^2 + (\omega_2 - (\omega_{\text{ctr}2} + 2\pi J_{\text{CH}}/2))^2] \quad [6-7]$$

であり、 A_1 、 D_1 は F_1 方向の吸収、分散スペクトルを、 A_{21} 、 D_{21} および A_{22} 、 D_{22} はそれぞれ F_2 方向の J_{CH} 二重線ピークの吸収、分散スペクトルを示す。従って、実部モデル式 $L_{\text{real}}(\omega_1, \omega_2)$ および虚部モデル式 $L_{\text{imag}}(\omega_1, \omega_2)$ は以下の様になる。

$$L_{\text{real}} = V[l_r \cos(\phi_0) - l_i \sin(\phi_0)] \quad [6-8]$$

$$L_{\text{imag}} = V[l_r \sin(\phi_0) + l_i \cos(\phi_0)] \quad [6-9]$$

$$l_r = A_1[A_{21} + (A_{22} \cos \phi_1 - D_{22} \sin \phi_1)] - D_1[D_{21} + (A_{22} \sin \phi_1 + D_{22} \cos \phi_1)] \quad [6-10]$$

$$l_i = A_1[D_{21} + (A_{22} \sin \phi_1 + D_{22} \cos \phi_1)] + A_2[A_{21} + (A_{22} \cos \phi_1 - D_{22} \sin \phi_1)] \quad [6-11]$$

以上のモデル式 [6-8]、[6-9] を用いた複素非線形最小二乗法^[6-6] による最適化アルゴリズムを開発した。非線形最小二乗法には、修正 Marquardt 法^[6-7] を用いた。

まず、誤差伝播式を用いて、このアルゴリズムで求められる推定精度の評価を実施した。求めるべきパラメータのそれぞれの成分 x_i の誤差 σ_{x_i} は、 L_{real} 、 L_{imag} のモデル

式から計算されるヤコビアン行列 D を介して 2D スペクトル上のノイズ σ から以下の式で伝播する^[6-6]。

$$\sigma_{xi} = \sqrt{(\tilde{D}D)_{ii}} \sigma \quad [6-12]$$

式 [6-12] を用いて第 5 章の人脳 2D スペクトルのグルタミン酸 4 位ピーク ($S/N = 3$ 、 $\alpha_1 = 8 \text{ Hz}$ 、 $\alpha_2 = 16 \text{ Hz}$) に対して相対誤差を計算した結果、ピークボリューム V は peak to peak で $\pm 9 \%$ の精度となった。ピーク強度からの算出では $\pm 17 \%$ の精度と見積もれるから、本アルゴリズムを用いることによって、約 1.9 倍の推定精度向上となる。

次に、*in vivo* スペクトルに対して適用した結果を図 6-4 に示す。この結果、カーブフィッティング後の残差はノイズレベルであり、良好にフィットできることを示すことができた。

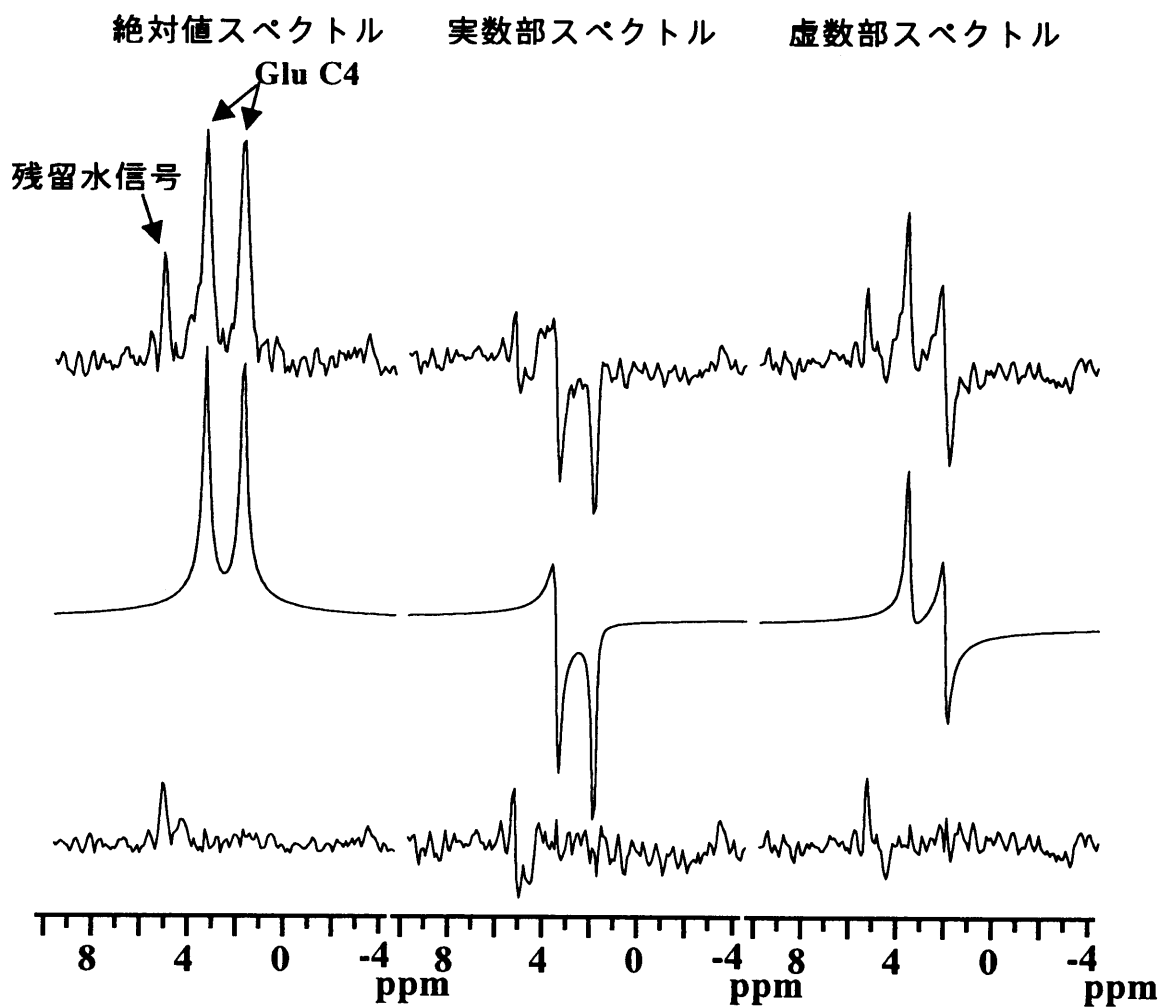


図6-4 人脳2D HSQC スペクトルのグルタミン酸4位のピークに対してカーブフィッティングを施した。絶対値、実部、虚部の F_2 クロスセクション（上段）とカーブフィッティングで得られたそれぞれのスペクトル（中段）、および残差（下段）を示す。いずれの場合も残差はノイズ程度である。

6. 4 人脳アミノ酸代謝計測

6. 4. 1 方法

強化した勾配磁場系を組み込んだ ^{13}C スペクトロスコピー研究用 2T 全身用 MRI 装置を用いた ^{13}C 標識グルコース投与後の人脳アミノ酸代謝計測を行った。RF コイルには、送信用として ^1H 用 (85.1 MHz) と ^{13}C 用 (21.4 MHz) の 2 重同調バードケージ型コイルを用い、受信用には ^1H 用サーフェスコイル ($130 \times 90 \text{ mm}^2$) あるいは 6 チャンネルで頭部周囲に配置する ^1H 用マルチサーフェスコイルを用いた^[6-8]。対象は、文書による同意を得た前夜からの絶食の 3 人の健常人男性ボランティア (20 代 1 名、30 代 2 名) とした。事前、事後検査を含む試験手順は第 5. 4. 1 節に記した方法に従い、 $[1-^{13}\text{C}] \text{D}$ グルコース (99 %標識、ISOTEC、USA) の投与量は、体重 1 kg 当たり 0.5 g とした。

$^1\text{H}[^{13}\text{C}] \text{MRSI}$ パルスシーケンスには、空間 1D エンコード勾配磁場パルスを付加したマルチスライス HSQC シーケンスを用いた。スライス順番は、いずれの場合も準備期で y スライス、 z スライスを実施し、検出期で x 軸方向のマルチスライスを行った。エンコード勾配磁場パルスに関しては、第 1 例、第 2 例では z チャンネルを用い、 y 軸を法線とする面 (冠状断面) 内の複数部位からの取得を行った。第 3 例に関しては、 y チャンネルのエンコード勾配磁場パルスを用い、 z 軸を法線とする面 (アキシヤル断面) 内の複数部位からの取得を行った。空間分解能は、第 1 例、第 2 例では、8 ml ($20 \times 20 \times 20 \text{ mm}^3$) とし、第 3 例では 36 ml ($30 \times 30 \times 40 \text{ mm}^3$) とした。

マルチスライス HSQC の条件は以下の通りとした。すなわち、RF パルスに関しては ^1H パルスは $\pm 4\pi$ の sinc 関数パルスを用い、 90° (^1H) パルス長は 2 ms、 180° (^1H) パルス長は 4 ms とした。 ^{13}C パルスは全てパルス長 400 μs の矩形波パルスとした。準備期の ^{13}C 反転パルスと第 3 番目の ^1H パルスとのディレイは $\Delta/2 = 1.8 \text{ ms}$ とした。準備期の時間長 2τ は 12 ms で、 $\text{TR} = 1200 \text{ ms}$ とした。 t_1 の初期値および最大値はそれぞれ 15 ms、79 ms とした。位相サイクルには、2 位相サイクルを用いた (第 5. 4. 1 節)。時間領域のマトリクス数は、第 1 例に対しては $128 \times 128 \times 4 \times 2$ ($t_1 \times t_2 \times k_x \times$ マルチスライス数)、第 2 例に対しては $128 \times 128 \times 4 \times 2$ 、第 3 例に対しては $128 \times 128 \times 4 \times 3$ とした。従って、時間分解能は $\text{TR} \times$ ステップ数 = 20 分であった。再構成の手順は第 5. 4. 1 節に記した通りであり、まず t_1 (^{13}C) 領域には 2 Hz、 t_2 (^1H) 領域には 7 Hz の指数関数ラインブロードニングを掛けた。その後、ゼ

口補填によりマトリクス数を $256 \times 256 \times 4 \times 2$ 、 $256 \times 256 \times 4 \times 4$ あるいは $256 \times 256 \times 4 \times 3$ として 3D フーリエ変換により再構成した。コヒーレンス選択勾配磁場パルスには x チャンネルを用い、感度向上につながるコヒーレンス移動エコー生成のため、 $G_c \Delta \tau_c : G_H \Delta \tau_H = 4 : 1$ を満たす様に設定した。 G_c 、 G_H に対する勾配磁場強度は 8.5 mT/m とし、 $\Delta \tau_c = 20 \text{ ms}$ 、 $\Delta \tau_H = 5 \text{ ms}$ とした。準備期に印加するクラッシャー勾配磁場パルスには y チャンネルを用い、検出期後のクラッシャーパルスには x チャンネルを用いた。

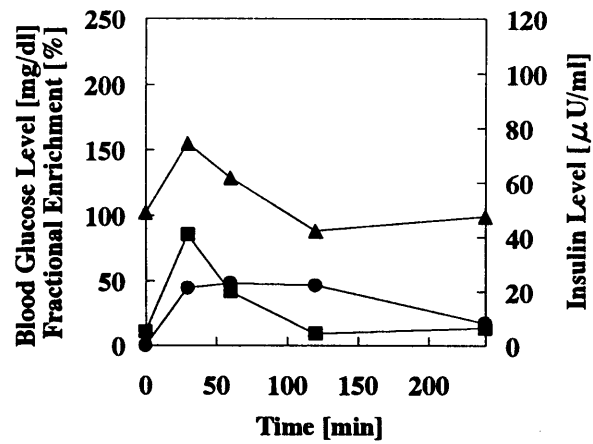
6. 4. 2 結果

血中グルコースの ^{13}C 標識率は、第 5 章で述べた人ボランティア試験の 0.5 g 経口投与と比較して、若干低い値を示した。すなわち、第 5 章の試験では最大 $70\% \sim 80\%$ であったのに対して (図 5-11)、第 1 例、第 2 例では最大 50% 程度に留まった (図 6-4)。

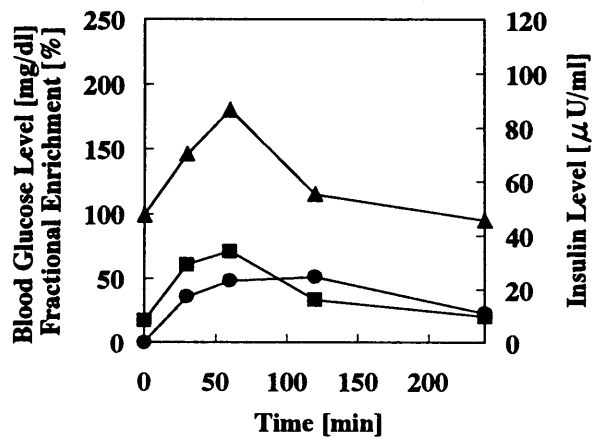
図 6-5 には、空間分解能 8 ml (第 1 例) でのグルタミン酸 4 位信号に対する F_1 クロスセクションの時間変化を示している。第 3 例で得られた積算スペクトルでは、第 5 章の人ボランティア試験では検出できなかったグルタミン 4 位を検出でき、すなわちグルタミン酸 4 位とグルタミン 4 位の分離検出が可能であった。(図 6-6、図 6-7)。さらに、グルタミン酸 3 位およびアスパラギン酸 3 位が検出可能であった (図 6-6、図 6-7)。

以上より、勾配磁場系の強化により高感度化が可能であることが実証できた。

第1例



第2例



第3例

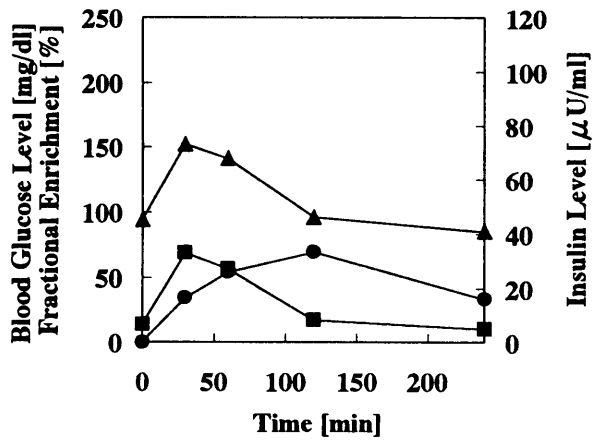


図6-4 血糖値 (▲)、インシュリン (■) および血中 ^{13}C グルコース標識率 (●) の時間変化。

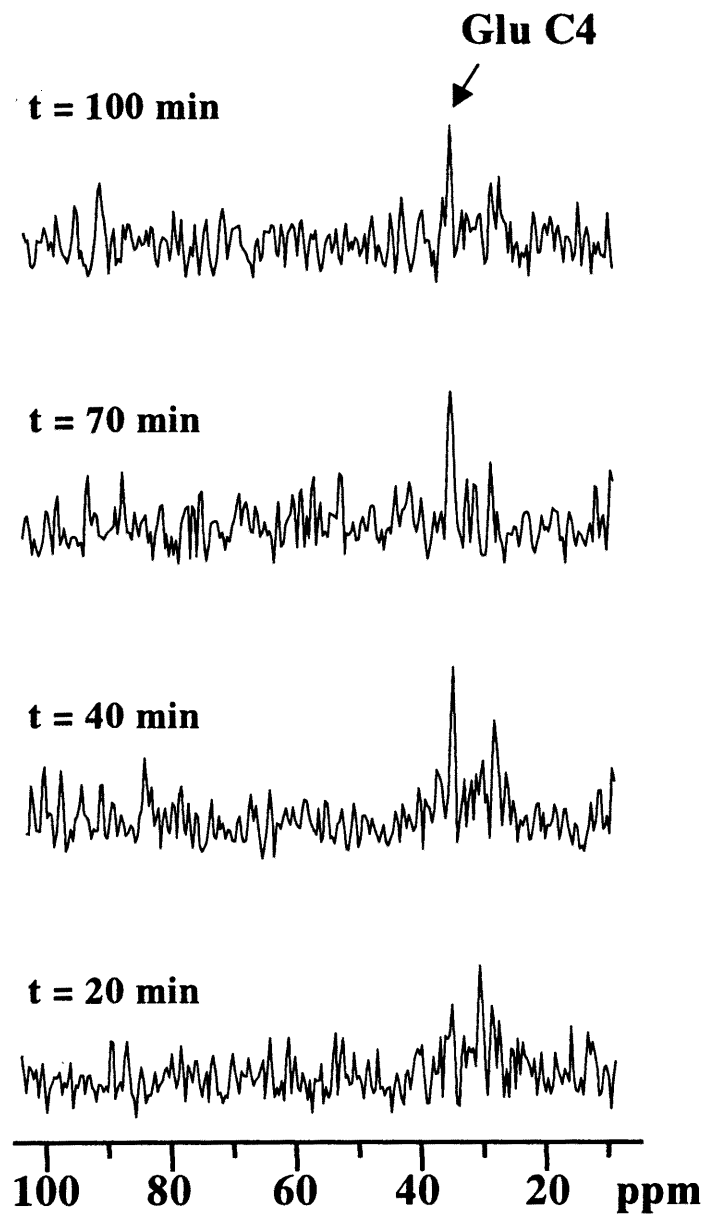


図 6 - 5 ^{13}C 標識グルコース投与後の人脳内 2D ^1H - ^{13}C HSQC スペクトルのグルタミン酸 4 位における F_1 クロスセクションの時間変化 (第 1 例)。空間分解能は 8 ml で時間分解能は 20 分。

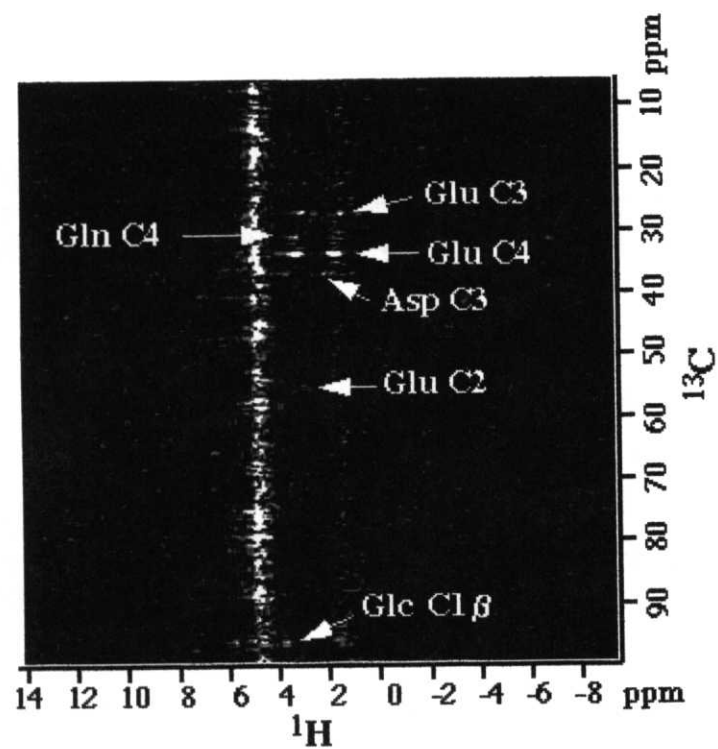


図 6-6 経口投与後の人脳積算 2D ^1H - ^{13}C HSQC スペクトル (第 3 例)。空間分解能は 36ml。積算時間は 100 分に相当。絶対値表示で示している。グルタミン酸 3 位、4 位、グルタミン 4 位、アスパラギン酸 3 位が検出されている。

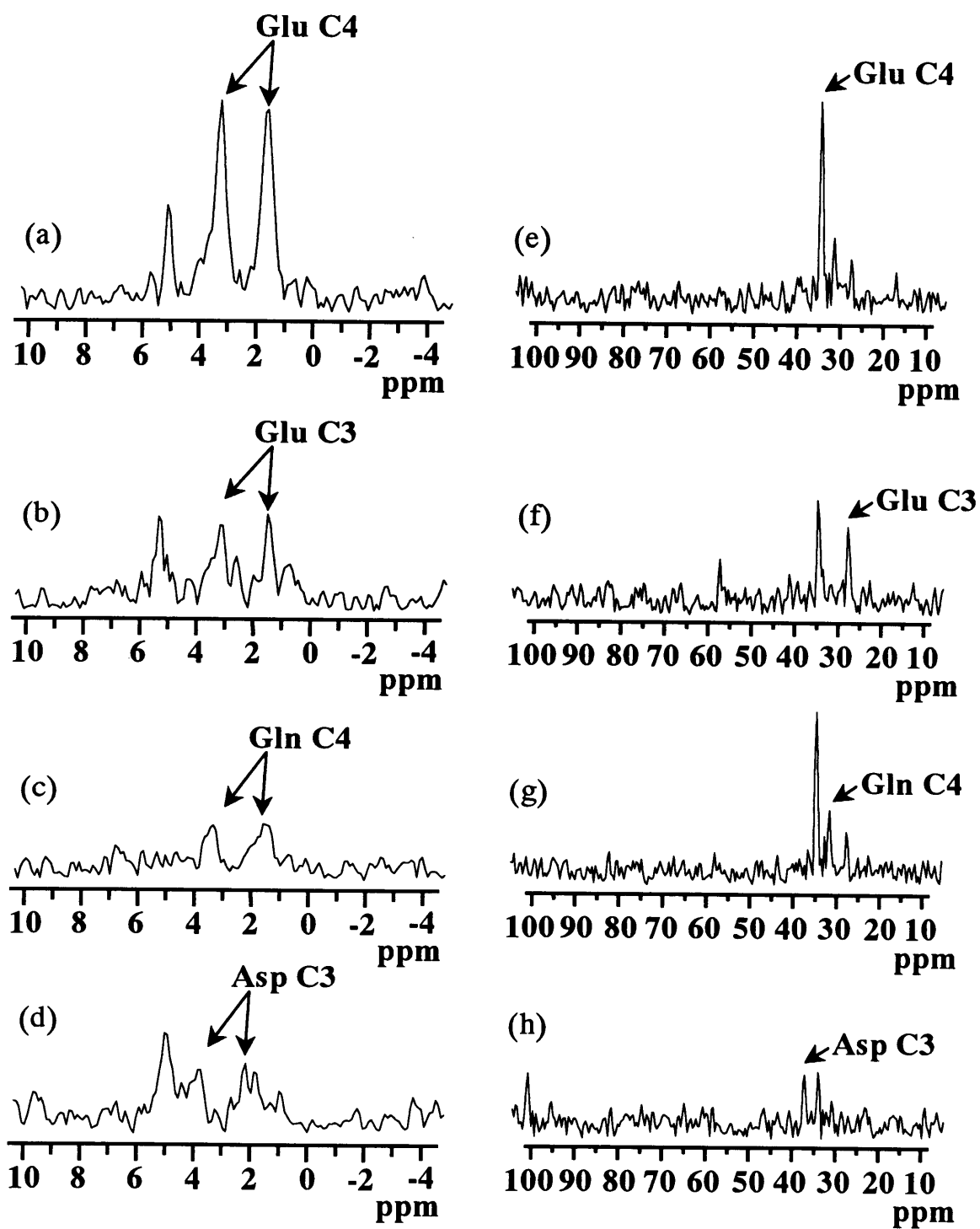


図6-7 積算スペクトルの各々のピークに対する F_2 および F_1 クロスセクション。それぞれグルタミン酸4位 (a)、(e)、3位 (b)、(f)、グルタミン4位 (c)、(g)、アスパラギン酸3位 (d)、(h) を示す。

6. 5 まとめ

本章では、局所励起 HSQC 法、マルチスライス HSQC 法によってさらに高感度な信号取得を可能とすべく勾配磁場系の強化を行った。これにより、準備期の時間長 2τ を 20 ms から 12 ms に、展開期の最小時間長を 47 ms から 15 ms に短縮することができた。この結果、ファントム実験より 1.5 倍程度の感度向上が期待できることが実証できた。また、マルチスライス HSQC 法によって得られる 2D スペクトル定量化に必要な複素非線形最小二乗法を用いたカーブフィッティングを開発し、人脳スペクトルを良好にフィットできることを実証した。誤差伝播式による誤差解析では、ピーク高さから信号強度を求めるのと比較して約 1.9 倍の精度向上が見込めることがわかった。

さらに、上記新システムを用いて人ボランティア試験を実施し、空間分解能 8 ml、時間分解能 20 分で最大 $S/N=1\sim 2$ のグルタミン酸 4 位信号を検出することが可能であった。また、空間分解能 36 ml の人ボランティア試験では、100 分の積算 2D $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HSQC スペクトル上でグルタミン酸 4 位とグルタミン酸 4 位の分離検出が可能であり、さらにグルタミン酸 3 位、アスパラギン酸 3 位のピークを観測することも可能であった。以上より、勾配磁場系の強化により、高感度化が可能であることを実証した。

参考文献

- [6-1] H. Watanabe, M. Umeda, Y. Ishihara, K. Okamoto, M. Oda, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, "High sensitive ^1H - ^{13}C HSQC spectroscopy using a high strength gradient system", Proc. of International Society for Magnetic Resonance in Medicine, 7th Annual Meeting, Pennsylvania, p. 1611, 1999.
- [6-2] H. Watanabe, M. Umeda, Y. Ishihara, K. Okamoto, M. Oda, T. Kanamatsu and Y. Tsukada, "Quantitative analysis of *in vivo* 2D ^1H - ^{13}C HSQC spectra using a complex nonlinear least-squares curve-fitting", Proc. of International Society for Magnetic Resonance in Medicine, 8th Annual Meeting, Denver, p. 1949, 2000.
- [6-3] R. Gruetter, E. J. Novotny, S. D. Boulware, G. F. Mason, D. L. Rothman, G. I. Schulman, J. W. Prichard, R. G. Shulman, Localized ^{13}C NMR spectroscopy in the human brain of amino acid labeling from D-[1- ^{13}C] glucose, J. Neurochem., vol. 63, pp. 1377-1385, 1994.
- [6-4] R. Gruetter, E. R. Seaquist, S. Kim and K. Ugurbil, "Localized *in vivo* ^{13}C -NMR of glutamate metabolism in the human brain: initial results at 4 tesla", Dev. Neurosci, vol. 20, pp.380-388, 1998.
- [6-5] J. Shen, K. F. Petersen, Kelvin L. Behar, P. Brown, T. W. Nixon, G. F. Mason, O. A. C. Petroff, G. L. Shulman, R. G. Shulman and D. L. Rothman, "Determination of the rate of the glutamate/glutamine cycle in the human brain by *in vivo* ^{13}C NMR", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 96, pp. 8235-8240, 1999.
- [6-6] 中川徹, 小柳義夫, "最小二乗法による実験データ解析", 東京, 東大出版会, 1989.
- [6-7] D. W. Marquardt, "An algorithm for least squares estimation of nonlinear parameters", J. Soc. Indust. Appl. Math., vol. 11, pp. 431-441, 1963.
- [6-8] P. B. Roemer, W. A. Edelstein, C. E. Hayes, S. P. Souza and O. M. Mueller, "The NMR phased array", vol. 16, pp. 192-225, 1990.

第7章 総括と結論

7. 1 総括

本研究では、 ^{13}C MRS を用いた非侵襲的脳代謝計測の実現を目的として、全身用 MRI 装置で実現する上で最適な3つのパルスシーケンスを提案した。これらのパルスシーケンスを全身用 MRI 装置に組み込み、動物実験および人ボランティア試験によりその性能を実証した。本論文は、以上の内容をまとめたものである。これらの研究内容に関し、以下に要約する。

1. 最適な ^{13}C MRS パルスシーケンスの検討

溶液系の ^{13}C NMR パルスシーケンスを ^{13}C 観測法と ^1H 観測法についてそれぞれ検討した。

- 1) 代謝物ピーク分離が良好という特徴を有する ^{13}C 観測法では、高感度でかつ局所励起が可能であることが重要である。分極移動法は、 ^1H 分極の利用が可能で、かつ代謝物間の位置ずれの影響の小さい ^1H での局所化が可能である。従って、分極移動法が ^{13}C 観測法として最適な方法である。
- 2) 高感度でかつ局所励起性能の良好な ^1H 観測法では、代謝物ピークを良好に分離検出できることが重要である。2D ^1H - ^{13}C 相関スペクトロスコピー法である HMQC 法と HSQC 法は、 ^{13}C 化学シフトを利用した良好なピーク分離が可能な方法である。さらに、脳代謝計測の重要な観測対象であるグルタミン酸等に対して、HSQC 法は HMQC 法よりも優れている。従って、HSQC 法が ^1H 観測法として最適な方法である。
- 3) 最大の課題である高感度化の点で優れるという点で、HSQC が *in vivo* 計測に最も適している。すなわち、HSQC は *in vivo* 計測において特に重要な要素である高感度化、局所化、代謝物の分離を全て満足するパルスシーケンスであると言える。

2. 局所励起 INEPT 法の提案と実験による性能の実証

分極移動法の INEPT 法を局所化応用する際の問題点を指摘し、これを解決する局所励起 INEPT 法を提案した。このパルスシーケンスを 2T 全身用 MRI 装置に

組み込み、ファントム実験にて基本性能を実証した。さらに、本方法を用いて ^{13}C 標識グルコース投与後のサル脳アミノ酸代謝計測を行い、各種アミノ酸への ^{13}C の取り込みが *in vivo* にて検出できることを実証した。

3. 局所励起 HSQC 法の提案と実験による性能の実証

HSQC 法を全身用 MRI 装置上で実現する際の問題点を指摘し、これを解決する局所励起 HSQC 法を提案した。このパルスシーケンスを 2T 全身用 MRI 装置に組み込み、ファントム実験にて基本性能を実証した。さらに、本方法により、 ^{13}C 標識グルコース投与後のサル脳 2D ^1H - ^{13}C HSQC スペクトルを取得し、各種アミノ酸への ^{13}C の取り込みが *in vivo* にて検出できることを実証した。

4. マルチスライス HSQC 法の提案と人脳アミノ酸代謝計測による性能実証

局所励起 HSQC 法と同一のスキャン時間で、空間 1 軸方向に複数部位からの 2D スペクトル取得が可能なマルチスライス HSQC 法を提案した。このパルスシーケンスを 2T 全身用 MRI 装置に組み込み、ファントム実験にてマルチボクセルスペクトロスコピーが可能であることを実証した。さらに、 ^{13}C 標識グルコース経口投与後の人脳アミノ酸代謝計測を実施し、脳内 4 ボクセルから 2D ^1H - ^{13}C HSQC スペクトルを取得することができた。さらに、 ^{13}C のグルタミン酸 4 位への取り込みを求め、時間変化を画像により求めることができた。この結果は、また、臨床応用が期待できる経口投与法の有用性を示すものである。

5. マルチスライス HSQC 法の高感度化

マルチスライス HSQC 法によってさらに高感度な信号取得を可能とすべく勾配磁場系の強化を行った。この結果、グルタミン酸ファントムを用いた実験により、約 1.5 倍の S/N 向上が期待できることがわかった。また、2D HSQC スペクトル定量化のための複素非線形最小二乗法を用いたカーブフィッティングアルゴリズムを開発し、人脳 2D スペクトルにて有用性を実証した。さらに、 ^{13}C 標識グルコース経口投与後の人脳アミノ酸代謝計測を実施し、時間分解能 20 分で空間分解能 8 ml の脳ボクセルからのグルタミン酸 4 位信号を S/N=1~2 で取得した。さらに、空間分解能 36 ml の脳ボクセルの 2D ^1H - ^{13}C HSQC スペクトルを

取得し、100 分の積算スペクトルにてグルタミン酸 4 位とグルタミン酸 4 位の分離検出が可能であり、さらにグルタミン酸 3 位、アスパラギン酸 3 位のピークを観測することが可能であった。

7. 2 結論

以上述べた様に、 ^{13}C MRS を用いた非侵襲的脳代謝計測の全身用 MRI 装置上での実現が可能な 3 つのパルスシーケンス、すなわち ^{13}C 観測法に関しては局所励起 INEPT 法、 ^1H 観測法に関しては局所励起 HSQC 法およびマルチスライス HSQC 法を提案した。これらは全て、局所励起が可能で、かつ広範囲な ^{13}C 化学シフトを利用して代謝物ピークを分離できるという特徴を有する。特に、 ^1H 感度での観測が可能な局所励起 HSQC 法およびマルチスライス HSQC 法は、 ^{13}C MRS の最大の課題である高感度化の点で最も優れており、従って ^{13}C MRS に最適なパルスシーケンスである。さらに、マルチスライス HSQC 法では空間 1 軸方向に対して代謝物分布計測が可能となる方法である。これらのパルスシーケンスを全身用 MRI 装置上に組み込み、動物実験あるいは人ボランティア試験にて性能を実証した。従って、提案した局所励起 INEPT 法、局所励起およびマルチスライス HSQC 法は全身用 MRI 装置上での実現が可能な非侵襲的脳代謝計測法であり、今後の臨床応用が期待される方法である。

謝辞

本論文をまとめるにあたり、懇切なる御指導と御助言ならびに御高配を賜りました
東京大学工学部 西敏夫教授、早川禮之助教授、鹿野田一司教授、伊藤耕三助教授、
生産技術研究所 田中肇教授、先端科学技術研究センター 小宮山真教授に深甚なる
感謝の意を表します。

本研究は、医療福祉機器技術研究開発制度の一環として、新エネルギー・産業技術
開発機構(NEDO)からの委託により行った研究をまとめたものであり、この委託のも
とで、(株)東芝研究開発センターおよび(株)東芝医用機器・システム開発センターと創価
大生命科学研究所との共同で行ったものであります。本研究に対しまして終始有益な
る御指導と御助言を頂いた創価大生命科学研究所 塚田裕三所長、金松知幸助教授、
押尾晃一助教授に深謝いたします。人ボランティア試験および動物実験において終始
御助力を賜りました同研究所 小田正記技師、林田恵伸技術員、高原ひろみ技術員に
感謝いたします。さらに、各種実験には同研究所 MR 装置を使用させて頂きました。
深く感謝いたします。

本研究の機会を与えて頂き、御鞭撻を賜り、終始有益なる指導と御助言を頂いた(株)
東芝医用機器・システム開発センター 佐藤幸三センター長、杉本博グループ長、鈴
木義規参事、岡本和也主査に厚く御礼申し上げます。そして、本研究システムの開発
に携わり、種々の討論や協力を頂いた(株)東芝医用機器・システム開発センター 石原
康利主務、梅田匡朗主事をはじめとする方々に感謝いたします。